

**DAS VERHALTEN DES
GESCHLECHTSCHROMATINS IN DER
GEWEBEKULTUR VON MENINGEOMEN
DES MENSCHEN**

Heide Seidel

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546706_0035

AUS DEM MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR PSYCHIATRIE MÜNCHEN

DAS VERHALTEN DES GESCHLECHTSCHROMATINS IN DER GEWEBEKULTUR
VON MENINGEOMEN DES MENSCHEN

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN

VERFASST UND EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER LUDWIG MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

HEIDE SEIDEL

AUS

STUTTGART

1974



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K.D. Zang

2. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Zander

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.1.1975

I.	EINFÜHRUNG	4
II.	MATERIAL UND METHODIK	9
III.	KLINISCHE ANGABEN ZU DEN UNTERSUCHTEN TUMOREN	17
IV.	UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	21
	1. Tabellen	
	2. Diagramme	
V.	DISKUSSION	42
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	51
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	53
VIII.	LEBENS LAUF	62

Meinen Dank möchte ich aussprechen:

Herrn Professor Dr. med. K.D. Zang, ehem. Leiter der Arbeitsgruppe für Medizinische Genetik, für die Überlassung des Themas und die Beratung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. F.K. Kessel, ehem. Leiter und Herrn Professor Dr. med. W. Weidenbach, jetziger Leiter der Neurochirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses rechts der Isar (jetzt Klinikum der Technischen Universität) in München, für die Überlassung des Materials und der klinischen Daten.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung der Untersuchungen im Rahmen des Forschungsvorhabens: Zellbiologische Untersuchungen an menschlichen Hirntumoren. (Za 32/9,10; SFB 51 E 12)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. G. Peters, Direktor des Theoretischen Instituts des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München, der mich als ehemalige technische Mitarbeiterin des Hauses zum Medizinstudium und zu dieser Doktorarbeit angeregt hat.

I. EINFÜHRUNG

Wie häufig in der Medizin verdankt auch die Methode der Zellkernmorphologischen Geschlechtererkennung ihre Entdeckung einem Zufall. Die beiden kanadischen Neuro-Anatomen BARR und BERTRAM entdeckten im Jahre 1949 bei Untersuchungen am Nucleus nervi hypoglossi der Katze, daß bei den weiblichen Tieren in der Mehrzahl der Zellkerne nahe dem Nucleolus ein kleiner Chromatinkörper lag. In weiteren Untersuchungen konnten BARR und Mitarbeiter zeigen, daß dieses basophil anfärbbare Körperchen auch in den Zellen anderer Gewebe von weiblichen Individuen zu finden war, während es bei männlichen fehlte. Wegen seiner nachbarschaftlichen Beziehung zum Nucleolus erhielt dieses Chromatinkörperchen zunächst die Bezeichnung "Nucleolus-Satellit".

Bei weiteren Untersuchungen ergab sich jedoch, daß die charakteristische Lage des Chromatinkörpers nicht in der Nähe des Nucleolus, sondern an der Innenseite der Zellkernmembran ist. Somit wurde die Lage-indifferente Bezeichnung "Geschlechtschromatin" ("sex-chromatin") oder nach dem Entdecker "Barr'sches Körperchen" ("Barr-body") gewählt. Aufgrund der Membranständigkeit ergibt sich nicht zwingend, daß das Geschlechtschromatin randständig ist; es kann auch in das Innere des Zellkerns projiziert sein. Um mögliche Verwechslungen mit kleineren Nucleolen zu vermeiden, hat man sich jedoch bald darauf geeinigt, nur randständiges Geschlechtschromatin zu bewerten. Daraus resultiert, daß die prozentuale Häufigkeit des Auftretens von Geschlechtschromatin bei "weiblichen" Geweben von Fall zu Fall schwanken kann und keineswegs 100% beträgt. Das gelegentlich beschriebene Auftreten von bis zu 3% positiven Zellkernen, auch bei "männlichen" Geweben, ist heute mit Sicherheit als Präparationsartefakt bzw.

als zufällig randständiges Heterochromatin oder randständige Nucleolen zu interpretieren. Bei sehr niedrigen Prozentsätzen Geschlechtschromatin-positiver Zellkerne in "weiblichen" Geweben besteht dagegen der Verdacht auf das Vorliegen einer chromosomalen Mosaikbildung.

Nach der LYON-Hypothese (Mary LYON 1961,62,63) besteht das Geschlechtschromatin aus einem der beiden X-Chromosomen, das bei der Frau während der Interphase ganz oder zum großen Teil kondensiert und genetisch inaktiviert ist. Man bezeichnet diesen Zustand, wie bei allen in der Interphase anfärbbaren Chromosomenanteilen als "heterochromatisch". In normalen "männlichen" Zellen ist nur ein X-Chromosom vorhanden; es verhält sich euchromatisch, wie der größte Teil der Autosomen, und der Zellkern enthält kein Sexchromatin. In normalen "weiblichen" Zellen mit dem Chromosomensatz 46,XX kann jeweils ein Sexchromatin-Körperchen beobachtet werden. Sind aber in einer Zelle mehr als zwei X-Chromosomen vorhanden, so verhält sich auch nur eines pro diploidem Chromosomensatz euchromatisch, während alle anderen X-Chromosomen heterochromatisch werden. Die Zellen weisen somit immer ein Geschlechtschromatinkörperchen weniger auf, als sie X-Chromosomen besitzen.

Diese Feststellung machte es möglich, aufgrund des Vorhandenseins oder Fehlens von Geschlechtschromatin eine Aussage über das jeweilige Geschlecht des Probanden zu machen.

Nachdem diese Feststellung getroffen worden war, wurden eine Reihe von Untersuchungen mit den unterschiedlichsten praktischen und theoretischen Fragestellungen durchgeführt.

Beim Verdacht auf zahlenmäßige Anomalien der X-Chromosomen (z.B. Turner-Syndrom) kann eine Untersuchung des Geschlechtschromatins vorgenommen werden. Diese relativ einfache Technik wird heute auch zur raschen Ge-

schlechtsdiagnose meist an Mundschleimhautabstrichen (MOORE und BARR 1954, 1955; MOORE 1966; MARBERGER et al. 1955) oder Haarwurzelzellen (ENGEL 1970; SCHMID 1967) durchgeführt.

In der Grundlagenforschung wurde das Geschlechtschromatin an den verschiedensten Geweben untersucht. Da man hierbei in der Regel mit Schnittpräparaten arbeiten muß, treten besondere Schwierigkeiten auf. Infolge der unvermeidlichen zahlreichen Kernanschnitte sinkt zwangsläufig der Prozentsatz Geschlechtschromatin-positiver Zellen deutlich ab.

Anfang der 60-iger Jahre beschäftigte man sich intensiv mit der Untersuchung von verschiedenen menschlichen Tumoren (HIENZ 1959 und 1964; SCHWARZACHER et al. 1970). Da sich auch hier Ausstrich-Präparate nur schwierig herstellen ließen, war man ebenfalls auf Schnittpräparate angewiesen. Besonderes Interesse gewannen die Mammacarzinome. Die zahlreichen Untersuchungen führten zu relativ einheitlichen Ergebnissen. Auftreten und Häufigkeit der Geschlechtschromatin-Körperchen legten eine Unterscheidung zwischen chromatin-positiven und -negativen Mammacarzinomen nahe (u.a. ATKIN 1958, 1964, 1967; HIENZ 1959 und 1965; LENNOX 1961; REGELE et al. 1963 und 1964; SCHWARZACHER et al. 1970). Es wurde lange Zeit eine Hormonabhängigkeit dieser Tumoren angenommen. Klinische Ergebnisse deuteten auf einen Zusammenhang zwischen chromatin-positiven Mammacarzinomen und deren therapeutischen Beeinflußbarkeit durch Androgene und zwischen chromatin-negativen durch Östrogene hin. (u.a. BACIE 1964; BLOMEL et al. 1963; EHLERS et al. 1958 und 1964; GRAF et al. 1961; GROPP et al. 1964 und 1966; GROSS et al. 1964; HIENZ et al. 1957; HIENZ 1964 und 1965; KALLENBERGER 1964 und 1966; KIMEL et al. 1957; REGELE 1964). Diese Annahme konnte jedoch nicht aufrecht erhalten werden (u.a. LOCHTRATH et al. 1969; SEEBACH et al. 1966; SCHÜLL et al. 1968).

Eine elegante Methode, das Geschlechtschromatin an Tumoren zu bestimmen, ist die Untersuchung an Gewebekulturen. Allerdings bestehen hier eine Reihe von Einwänden bezüglich der Vergleichbarkeit von Zellrasen mit dem in vivo-Verhalten des gleichen Tumors. Der Vorteil besteht jedoch gegenüber Zellausstrichen oder gar Schnitten darin, daß man einen Monolayer mit intakten Kernen ohne Artefakte wie Nekrosen, Blutungen u.a. zur Verfügung hat.

Während zahlreiche maligne Tumoren auch auf ihren jeweiligen Chromosomensatz untersucht worden sind, fehlen derartige Untersuchungen an benignen Tumoren fast völlig (SANDBERG and HOSSFELD 1970). Ein Grund hierfür mag darin zu suchen sein, daß gutartige Tumoren bei Direktpräparation nur wenige Mitosen bieten und auch zur in-vitro-Züchtung infolge der geringen Proliferationstendenz relativ ungeeignet sind. Dies gilt auch für gutartige Hirn- und Hirnhauttumoren, deren Züchtung in vitro mit erheblichem methodischem Aufwand verbunden ist.

Im Laufe einer langjährigen Untersuchungsreihe am Max-Planck-Institut für Psychiatrie ist es gelungen, geeignete Züchtungsbedingungen für intracranielle Tumoren zu erarbeiten, unter denen auch relativ gutartige Tumoren proliferieren und als Tumorgewebe bestehen bleiben; denn Gewebekulturen von Tumoren neigen dazu, in Fibroblastenkulturen überzugehen, weil meist das Bindegewebe in vitro eine stärkere Proliferationstendenz als die Tumorzellen aufweist. Mithilfe der im folgenden angegebenen Methodik ist es gelungen, die Fibroblastenproliferation zurückzudrängen.

Eine besondere Wachstumsfreudigkeit zeigen unter unseren Bedingungen die Meningeome, Tumoren, die von den weichen Hirnhäuten ausgehen und in vivo verdrängend, d.h. ohne Infiltrationstendenz, wachsen. In den Jahren 1965-1972 wurde an einer Serie von über 100 Meningeomen festgestellt, daß das

Meningeom als bisher einziger solider Tumor einheitliche Chromosomenveränderungen aufweist, die immer mit dem Verlust eines Chromosoms 22 beginnen (ZANG und SINGER 1967; SINGER und ZANG 1970; ZANKL und ZANG 1971 und 1972). Es wurde weiter festgestellt, daß enge Korrelation zwischen der Architektur des Schnittbildes, dem Verhalten in der Gewebekultur und den Chromosomensätzen bestehen (ZANG und SINGER 1968; ZANG 1970). Das arachnoitheliale Meningeom, die häufigste Form dieser Tumoren, weist in der Regel einen einheitlichen Chromosomensatz 45,-G22, bzw. eine Mosaikstruktur 46/45,-G22, auf. Die seltenere fibromatöse Form ist mit einem Chromosomensatz korreliert, bei dem neben einem Chromosom 22 meist ein bis zwei weitere Chromosomen verlorengegangen sind. Die seltene strukturarme, epitheloide Variante verfügt meist nur über 40 bis 42 Chromosomen.

Das Meningeom ist wie kein anderer solider menschlicher Tumor zytogenetisch abgeklärt und klassifiziert; es proliferiert unter unseren Züchtungsbedingungen außerordentlich gut und einheitlich und weist in vitro für den jeweiligen Tumor sehr einheitliche Chromosomensätze auf. Es bot sich somit in besonderem Maße auch als Modelltumor für Studien über die Ausbildung von Geschlechtschromatin an.

Bearbeitet werden sollten im wesentlichen zwei Fragestellungen:

1. Besteht bei weiblichen Meningeomen eine Abhängigkeit der in vitro-Ausprägung des Geschlechtschromatins von der Wachstumsdynamik des Tumors; verglichen werden sollten Zellkulturen in der logarithmischen und stationären Proliferationsphase.
2. Besteht bei weiblichen Meningeomen eine Abhängigkeit der Geschlechtschromatinhäufigkeit von den jeweils vorliegenden Chromosomensätzen.

Erwartet wurden weitere Aufschlüsse darüber, ob die quantitative Beurteilung des Geschlechtschromatins einen geeigneten zusätzlichen Parameter für ein "Grading" von menschlichen Tumoren darstellt.

II. MATERIAL UND METHODIK

Das Geschlechtschromatin wurde an Explantatkulturen von Biopsiematerial von menschlichen Meningeomen untersucht, die im Zeitraum April 1966 bis Juni 1969 in der Neurochirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses rechts der Isar (jetzt Klinikum der Technischen Universität München) operiert worden waren. Die Züchtung erfolgte im Gewebezüchtungs-labor der Neuropathologischen Abteilung des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie München⁺⁾ .

Das Biopsiematerial wurde unmittelbar nach der Operation in eine sterile Petrischale übernommen. Nach dem Transport in unser Institut wurde ein Teil des Materials zur histologischen und histochemischen Untersuchung verwendet, der andere Teil in ein zu einem Drittel mit Nährmedium (siehe unten) beschicktes Zentrifugenglas mit rundem Boden überführt. Dabei wurde sorgfältig darauf geachtet, ausschließlich Tumorgewebe zu verwenden und gelegentlich begleitendes normales Hirngewebe oder Blutkoagel abzutrennen. Die histologische Schnelldiagnose erfolgte mit Hilfe eines Gefrierschnittes, der mit Hämatoxylin-Eosin (H.E.) gefärbt war. Zur Erhärtung der Diagnose und genaueren Differenzierung des Meningeomtyps wurde der Rest des Biopsiematerials in Paraffin eingebettet und ebenfalls mit H.E. gefärbt. Auf die genaue Beschreibung der Tumoren wird weiter unten eingegangen.

⁺⁾ Alle Gewebekulturen wurden von mir selbst angelegt. Ein Teil der untersuchten Fälle ist von mir als Medizinisch Technische Assistentin vor Beginn meines Studiums bearbeitet worden.

1. Gewebekulturmethode

Das zur Gewebezüchtung gewonnene Material wurde nach der von KERSTING (1961) modifizierten Methode nach GEY (1933 und 1936) weiterverarbeitet. Das Gewebestück wurde im Zentrifugenglas mit einer gebogenen und vorne abgerundeten Schere bis zu einer Partikelgröße von maximal 1 mm Kantenlänge systematisch zerkleinert. Nach Sedimentation durch kurzes Stehenlassen wurde der Flüssigkeitsüberstand mit einer Pasteurpipette abgesaugt und durch frisches Nährmedium ersetzt. Die Partikel wurden durch Aufpipettieren und Sedimentieren so oft gewaschen bis die überstehende Flüssigkeit klar blieb. Auch diese Flüssigkeit wurde bis auf einen kleinen Rest abgesaugt. Die Vorbereitung zur Pflanzung der Partikel war einschließlich des vorangegangenen Transports in einem Zeitraum von einer, maximal zwei, Stunden nach der Tumorentnahme aus dem Schädel abgeschlossen.

Die Pflanzung des vorbereiteten Materials erfolgte ebenfalls nach der von KERSTING (1961) beschriebenen Weise. Als Kulturgefäße dienten sturwandige Reagenzröhrchen, in die im unteren Drittel je ein Deckglasstreifen (8 x 50 x 0,2 mm) mit einem untoxischen Klebstoff (Mowital F, Fa. Farbwerke Hoechst) fixiert worden war. Auf diese Deckglasstreifen wurde mit einer Pasteurpipette ein dünner Film Hahnenplasma aufgetragen. Vier bis sechs Partikel (Explantate) wurden mit einer an der Spitze umgebogenen Pasteurpipette hintereinander auf den Deckglasstreifen gebracht. Die Zugabe von einem Tropfen Hühnerembryonalextrakt pro Deckglaslamelle führte nach Inkubation von einer Stunde bei 37°C zur Gerinnung des Plasmas und somit zur Fixierung des Gewebes. Daraufhin wurden die Kulturen mit 2 ml vorgewärmtem Nährmedium beschickt. Die Kulturröhrchen wurden verkorkt und im Brutschrank bei 37°C in Schräglage in einem durch einen Elektromotor betriebenen Roller langsam rotiert. Somit waren die Kulturen abwechselnd dem Medium und dem Luftsauerstoff ausgesetzt, wodurch die

Proliferation der Zellkulturen verstärkt wurde. Die Verarbeitung wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

Als Nährmedium wurde ein Gemisch aus 50% Medium 199 (Difco), 40% Rinderamnionflüssigkeit, 10% Kälberserum und 0,5 g/Liter Hefeextrakt (Yeastolate/Difco) benutzt. (Hahnenplasma, Embryonalextrakt, Amnionflüssigkeit und Kälberserum wurden in der bei KERSTING (1961) beschriebenen Weise gewonnen.) Als Indikator diente ein Zusatz von 2 ml einer 0,5%igen Phenolrotlösung pro Liter Medium. Zur Vermeidung von Sekundärinfektionen wurden 200 000 E Penicillin und 0,15 g Streptomycin pro Liter Medium zugesetzt. Das fertige Medium wurde mit einer 10%igen Natrium-bicarbonatlösung auf ein pH zwischen 7,2 und 7,4 eingestellt, steril filtriert und nach einer Sterilprobe im Kühlschrank aufbewahrt.

Das Wachstum der Kulturen wurde in zwei- bis dreitägigen Abständen unter einer Lupe kontrolliert und das Nährmedium erneuert. Da beim Zellwachstum saure Metaboliten entstehen, verschiebt sich der pH-Wert des Mediums von Kulturen, die bei Betrachtung ein reges Zellwachstum zeigen, zum sauren Bereich hin. Die Farbe des Indikators Phenolrot verschiebt sich dabei von rot nach gelb. Die Zellkulturen reduzieren in saurem Medium ihre Wachstumsgeschwindigkeit und werden durch den Mediumwechsel erneut zur Proliferation angeregt. Je nach Zellwachstum wurden in ungefährem Abstand von 3, 7, 10, 14 und mehr Tagen Kulturen entnommen, fixiert und H.E.-gefärbt.

2. Fixierungs- und Färbemethoden

An die Fixierung und Färbung von Gewebekulturen zur einwandfreien Darstellung heterochromatischer Kernstrukturen müssen hohe Ansprüche ge-

stellt werden. Wichtig ist vor allem eine Standardisierung, um gleichmäßige Ergebnisse zu erhalten. Nach der Fixierung soll einerseits eine möglichst lebensgetreue Darstellung der Kernstruktur erhalten bleiben, andererseits soll die Handhabung möglichst einfach sein. Diesen Ansprüchen wird für den hier dargestellten Zweck eine Fixierung in 96%igem Isopropylalkohol am meisten gerecht. Sie läßt das spärliche Heterochromatin der Zellkerne fein gekörnelt erscheinen, und das Sexchromatin deutlich hervortreten. Außerdem ist diese Fixationsmethode weit verbreitet und läßt einen Vergleich der Ergebnisse verschiedener Laboratorien zu. Nach Entnahme des Materials wurde zunächst zehn Minuten lang in 96%igem Isopropylalkohol fixiert. Danach wurden die Präparate in 70%igem Isopropylalkohol bis zur Färbung aufbewahrt, um einer allzu starken Zellschrumpfung entgegen zu wirken.

Zur Darstellung des Sexchromatins ist jede Färbung verwendbar, die das Chromatin des Zellkerns darstellt und von den Nucleolen unterscheiden läßt. Zwar ist die H.E.-Färbung hierfür nicht optimal geeignet; wie im folgenden gezeigt wird, kann der geübte Untersucher mit ihr jedoch zu eindeutigen Ergebnissen gelangen. Das H.E.-Kernbild wurde in einer vergleichenden Untersuchungsreihe mit folgenden Darstellungsverfahren verglichen:

- 1) Feulgen-Reaktion auf DNS (ROMEIS 1967)
- 2) Nissl-Färbung mit Thionin (ROMEIS 1967)
- 3) Thionin-Färbung nach KLINGER und LUDWIG (1957)
- 4) Einarsson-Färbung mit Gallocyanin-Chromalaun (ROMEIS 1967)
- 5) Hämatoxylin-Eosin-Färbung (ROMEIS 1967)

Ohne Zweifel wäre die Feulgen-Reaktion, obwohl sie sehr aufwendig und launisch ist, die günstigste Methode. Sie reagiert spezifisch auf DNS, so daß

das Geschlechtschromatin deutlich von den RNS-haltigen Nucleolen zu unterscheiden ist und somit auch eine Mitbewertung nicht randständiger Geschlechtschromatinkörper zuliebe. Den gleichen Vorteil bietet die Thioninfärbung mit vorangehender Hydrolyse nach KLINGER und LUDWIG. Die restlichen Färbungen erlaubten keine bessere Differenzierung zwischen Nucleolen und Sexchromatin als die standardisierte H.E.-Färbung. Diese vergleichende Untersuchungsreihe an jeweils den gleichen Tumoren zeigte somit, daß H.E.-gefärbte Präparate durchaus verwendbar sind. Es ist jedoch notwendig, sehr strenge Bewertungskriterien festzulegen, um die erwähnte Verwechslungsmöglichkeit mit kleinen Nucleolen zu vermeiden. Es wurde deshalb grundsätzlich nur Kern-randständiges und der Form nach charakteristisches, dreieckiges oder V-förmiges, Chromatin bewertet. Unsere Prozentwerte sind daher zwangsläufig etwas niedriger als gewohnt, was jedoch im Rahmen einer vergleichenden Untersuchungsreihe bedeutungslos ist. Die bei ROMEIS angegebene H.E.-Färbung für Schnittpreparate wurde für Gewebekulturen von uns folgendermaßen geringfügig modifiziert.

- 1) 10 min. Hämatoxylin nach EHRLICH
- 2) kurzes Eintauchen in Leitungswasser
- 3) kurz Salzsäure-Alkohol zur Differenzierung
- 4) 20 min. fließendes warmes Wasser zum Bläuen
- 5) 1 min. 0,1%iges Erythrosin
- 6) aufsteigende Alkoholreihe (70-100%)
- 7) Xylol
- 8) Eindecken mit Caedax.

3. Auswertung der Präparate

In der vorliegenden Untersuchungsreihe wurden 13 Meningeome von weiblichen und 2 Meningeome von männlichen Patienten untereinander verglichen. Als

zusätzliche Vergleichsgewebe wurden Fibroblasten einer Hautbiopsie eines neugeborenen Mädchens und Arachnoidealgewebe eines männlichen Föten ausgewertet.

Die quantitative Bestimmung der Geschlechtschromatinhäufigkeit erfolgte für jeden einzelnen Tumor sowohl im Querschnitt (topographischer Vergleich) als auch im Längsschnitt (Zeitvergleich). Im Querschnitt wurde die Häufigkeit des Geschlechtschromatins der Biopsie (Explantat) mit derjenigen in Explantatnähe und mit derjenigen am äußeren Proliferationsaum verglichen. Die Explantate von Meningeompartikeln haben im Gegensatz zu Hautpartikeln und Partikeln anderer untersuchter Tumoren die Tendenz, innerhalb der ersten zwei Tage in vitro sehr stark abzuflachen und zu zerfließen. Auf diese Weise wird eine Beurteilung der Kernstruktur des Tumor-Ausgangsmaterials ohne die eingangs geschilderten Schwierigkeiten der quantitativen Geschlechtschromatinbestimmung bei Schnittpräparaten möglich. - Bei der Längsschnittuntersuchung wurden die bei der Querschnittsuntersuchung gefundenen Werte nach unterschiedlicher Züchtungs-Zeitdauer miteinander verglichen.

Der Untersuchungsplan wurde nach folgenden Schemata durchgeführt:

I. Längsschnitt-Untersuchung

Jeder Tumor wurde zu mindestens 3 Züchtungszeitpunkten untersucht, wobei der genaue Zeitpunkt je nach der individuellen Proliferationsgeschwindigkeit des betreffenden Tumors um einige Tage variieren kann. In den Tabellen ist der Zeitpunkt jeweils genau angegeben.

- 1) 3 bis 7 Tage
- 2) 7 bis 14 Tage
- 3) - 5) über 14 Tage

II. Querschnitts-Untersuchung

- a) Für jeden Zeitpunkt wurden jeweils eine Kultur, evtl. auch mehrere Parallelkulturen ausgewertet. Dabei wurden durchschnittlich fünf Explantate und die zugehörigen Zellkränze bewertet.
- b) Vom Explantat, der inneren und der äußeren Proliferationszone wurde bei jeweils 100 Zellkernen das Vorhandensein eines Sex-Chromatin-Körperchens geprüft.
- c) Bewertet wurden ausschließlich Tumorzellen; sie lassen sich in der Regel deutlich von Fibroblasten und Makrophagen unterscheiden. Außerdem konnte mit Hilfe des von uns verwendeten Züchtungsverfahrens vermieden werden, daß vor Ende der zweiten Züchtungswoche eine relevante Fibroblastenproliferation auftrat. In Explantatnähe können Fibroblasten aufgrund ihrer spindeligen Form, den bipolar angeordneten Fortsätzen, in den äußeren Proliferationsbezirken durch ihre großflächige, schleierartige multipolare Zytoplasmabegrenzung, erkannt werden. Die Kernstruktur der Fibroblasten unterscheidet sich durch den stärkeren Heterochromatinanteil von den relativ großen schwach basophilen runden bis ovalen fein gekörnten Meningeomzellkernen. Die in den ersten Züchtungstagen gelegentlich zahlreich aus den Explantaten auswandernden und proliferierenden Makrophagen konnten aufgrund ihrer geringeren Größe, der kleinen stark basophilen Kerne und der Eosinophilie ihres Zytoplasmas immer eindeutig erkannt werden.
- d) Die Auswertung erfolgte bei 1000-facher Vergrößerung mit einem Ölimmersionsobjektiv (Zeiss-Neofluar 100, n. A. 1,25) unter Verwendung eines Gitterokulars (10X); aplanatisch-achromatischer Hellfeld-Trockenkondensor (n. A. 1,4), Zwischenvergrößerung (Optovar 1,25X). -

Die Protokollierung der Geschlechtschromatin-positiven bzw. - negativen Zellen erfolgte mit zwei elektromechanischen Zählern mit Fußschaltung (ZANG 1965).

Für den Querschnittsvergleich wurde für die Angabe der prozentualen Häufigkeit von Geschlechtschromatin jeweils der Mittelwert aus den zu verschiedenen Zeitpunkten für die einzelnen Regionen (Explantat, innere und äußere Proliferationszone) gefundenen Werten gebildet.

4. Zelldichtebestimmung

Zur Bestimmung der Zelldichte wurde, wenn nicht anders angegeben, der Mittelwert aus jeweils 4-6 Gesichtsfeldern pro Areal ermittelt.

Die mit einem Objektmikrometer ermittelte Gesichtsfeldgröße betrug für alle durchgeführten Untersuchungen einheitlich $12.076 \mu^2$.

III. KLINISCHE ANGABEN ZU DEN UNTERSUCHTEN TUMOREN AUFGRUND DER KRANKENGESCHICHTEN

(chronologische Reihenfolge der Bearbeitung)

T 465 60-jähriger Mann; seit etwa 4 bis 5 Jahren Lähmung der rechten Gesichtshälfte, seit ca 1 1/2 Jahren Gehörverschlechterung rechts; seit ca 1/2 Jahr Unsicherheit beim Gehen, Schwindelgefühl.

Am 13.4.66 Operation eines intracerebral, parasagittal-occipital bilateral (Falx) gelegenen, etwa 300 g schweren Tumors

T 543 52-jährige Frau; seit ca 1 Jahr Schwindel beim Stehen und Gehen; Auftreten von Doppelbildern; Müdigkeit, Unsicherheit beim Gehen, Schluckbeschwerden.

Am 28.11.66 Operation eines extracerebral in der hinteren Schädelgrube gelegenen hühnereigroßen Tumors.

T 559 50-jährige Frau; seit ca 2 Monaten Gehbehinderung, Schmerzen im Kreuz und in den Beinen; Auftreten von cerebralen Krampfanfällen, Zwangshaltung des Kopfes nach links, schlaffe linksbetonte Paraparese der Beine, keine pathologischen Reflexe auslösbar; psychisch stark verändert: läppisch, euphorisch, distanzlos, kritiklos.

Am 25.1.67 Operation eines rechts-extracerebral gelegenen, ca 30 g schweren Keilbeintumors.

T 562 67-jährige Frau; seit ca 1 1/2 Jahren Brennen der Fußsohlen, Schweregefühl; seit ca 1/2 Jahr Unmöglichkeit, die Zehen zu bewegen, später Sensibilitätsstörungen bis zur Leistenhöhe; seit 3 Wochen deutliche Gehverschlechterung, Auftreten von

Schmerzen in der linken Beckenseite.

Am 31.1.67 Operation eines extraspinal gelegenen mandelgroßen Tumors (Th 11 bis 12).

T 579 65-jährige Frau; seit 1 Jahr schmerzhaft verkrampfter rechter Arm; vor 3 Monaten plötzliche Verwirrtheit, Wortfindungsstörungen, Unmöglichkeit zu schreiben; leichter Nystagmus beim Blick nach beiden Seiten; rechtsseitiger positiver Babinskireflex; leichte Hypaesthesien rechts, allgemeine Verlangsamung, Schwerfälligkeit, beeinträchtigte Merkfähigkeit.

Am 10.3.67 Operation eines links-parasagittal-frontal gelegenen hühnereigroßen Tumors.

T 582 57-jährige Frau; seit ca 6 Monaten Pelzigkeit der linken unteren Körperseite bis in Höhe des Rippenbogens, gleichzeitig kein Temperaturgefühl mehr vorhanden.

Am 14.3.67 Operation eines intradural gelegenen mandelgroßen Tumors (Th 1).

T 585 65-jährige Frau; seit ca 3 Jahren anfallsweise Sprachstörungen in 4- bis 8-wöchentlichen Abständen; keine Bewußtlosigkeit.

Am 21.3.67 Operation eines links-parasagittal-parietal gelegenen, ca 40 g schweren Tumors.

T 600 42-jährige Frau; seit dem 12. Lebensjahr kurzdauernde Absenzen; seit dem 33. Lebensjahr generalisierte Krampfanfälle; vor 5 Wochen Verlust des Geruchssinns; vor ca 4 Jahren Verschlechterung des Sehvermögens am rechten Auge, seit ca 1 Jahr Sehverminderung des linken Auges, Anisokorie der Augen mit links weiterer Pupille als rechts.

Am 22.5.67 Operation eines zwischen Tentorium und Sella gelegenen gänseeigroßen Tumors.

T 616 57-jährige Frau; schlechter Allgemeinzustand; Anamnese nicht erhebbar; Beschwerden angeblich etwa 4 Jahre zurückreichend.

Am 3.7.67 Operation eines rechts-temporal-subcerebral gelegenen mandarinengroßen Tumors von der Sella bis zur Falx reichend.

T 623 51-jähriger Mann; in den letzten Jahren zunehmende Seh- und Hörverschlechterung; Unsicherheit beim Gehen.

Am 4.8.67 Operation eines links-extracerebral gelegenen, ca. 130 g schweren Keilbeintumors.

T 658 43-jährige Frau; seit 3 Jahren rechts starke Kopfschmerzen und Sehverschlechterung; im vergangenen Jahr starker Gewichtsverlust.

Am 23.11.67 Operation eines rechts-extracerebral gelegenen pflaumengroßen Keilbeintumors.

T 659 66-jährige Frau; seit ca 1 1/2 Jahren Paraesthesien am linken Arm, seit 2 Monaten an Hals und Kopf; tonisch-klonischer Krampfanfall ohne Bewußtlosigkeit.

Am 5.12.67 Operation eines rechts parasagittal-temporal intracerebral gelegenen gefäßreichen Tumors (Größe nicht zu ermitteln).

T 759 53-jährige Frau; seit mehreren Wochen Erinnerungslücken, Wortfindungsstörungen und heftige Kopfschmerzen.

Am 25.7.68 Operation eines parasagittal-fronto-temporal gelegenen apfelgroßen Tumors.

T 796 52-jährige Frau; seit 4 Jahren linksseitige Kopfschmerzen mit gelegentlichem Erbrechen und Schwindel; in letzter Zeit Herabsetzung der Seh- und Hörfähigkeit.

Am 1.10.68 Operation eines links-parasagittal-occipital gelegenen mannsfaustgroßen Tumors.

T 919 45-jährige Frau; vor einem Jahr Auftreten von Sprachstörungen, rechtsseitige Hemiparese für zwei Wochen; später Pelzigkeit der ganzen rechten Körperseite; seit 3/4 Jahren Lähmung des rechten Armes und Beines; psychisch leicht erregbar.

Am 24.6.69 Operation eines links-parasagittal-occipital (Falx) gelegenen apfelgroßen Tumors.

IV. ERGEBNISSE

Vorbemerkungen

Die Untersuchungen der beschriebenen Gewebekulturen auf Geschlechtschromatin wurde in der Zeit von Mai 1969 bis April 1970 vorgenommen. Die Kulturen waren bereits cytologisch und cytogenetisch untersucht.

Wie KERSTING (1961) bereits berichtete, bilden Hirntumoren in der Gewebekultur unter seinen von uns übernommenen Züchtungsbedingungen einen charakteristischen Wuchsverband, der dem in vivo gewachsenen Tumor ähnelt. Es entwickeln sich "histologische" Strukturen, die in einer zweidimensionalen Anordnung dem ursprünglichen Schnittbild weitgehend entsprechen, dabei jedoch nicht durch Unregelmäßigkeiten infolge der Gefäßarchitektur und regressive Veränderungen beeinträchtigt werden. Dies ermöglichte es, unter den hier beschriebenen Meningeomen charakteristische Untergruppen zu bilden, die weitgehend in der Kulturform und dem Chromosomensatz übereinstimmen.

Jeder Tumor wird im Hinblick auf seine Histologie, sein Verhalten in der Gewebekultur, sein chromosomales Spektrum und auf Vorhandensein von Geschlechtschromatin beschrieben.

Die Grundeinteilung der Tumoren erfolgte nach der Klassifikation von ZÜLCH (1956,1958) unter Berücksichtigung der Angaben von PETERS (1951), BAILEY (1951) und KERSTING (1964). Die Beschreibung und Klassifikation der Meningeome aufgrund der zusätzlichen Kriterien aus Gewebekultur und Chromosomensatz wurde von ZANG (1970) vorgenommen.

Kasuistik der Meningeom-Befunde

T 559

Histologie: Regressiv verändertes arachnotheliales Meningeom mit ausgeprägter Inselbildung aber geringem Zwischengewebe, wenig Zwiebelschalenstrukturen und Psammome.

Gewebekultur: Am 5. Tag bereits sehr starke Auflockerung der kleinen Explantate; Auswachsen teils in Form eines geschlossenen Monolayers, teils in Reihen und Zügen; geringe Fibroblastenaktivität.

Am Ende der 2. Woche fast völlige Besiedelung der Deckgläser unter Ausbildung einer geschlossenen strukturarmen epitheloiden Zellschicht; weitgehende Isomorphie der Kerne, kaum mehrkernige oder polyploide Zellen.

Chromosomenanalyse: (6. Tag) Überwiegend normaler weiblicher Chromosomensatz neben einer G-monosomen Zelllinie.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 5., 7., 14. und 19. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 17 Explantate untersucht. Dabei ergaben sich in den verschiedenen Bereichen folgende Werte an Geschlechtschromatin-positiven Zellkernen im Mittelwert:

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		bewertete Kerne/Area1
		innen	außen	
5. Tag	32,0 %	27,4 %	10,4 %	500
7. Tag	29,3 %	25,0 %	8,0 %	300
14. Tag	27,8 %	24,0 %	7,8 %	500
19. Tag	30,5 %	30,5 %	11,0 %	400
Mittelwert:	29,9 %	26,7 %	9,3 %	1.700 ($\times 3^+$)

Zelldichte:
(Mittelwert) 164,6/GF 30,8/GF 6,0/GF Anzahl der ausgezählten Gesichtsfelder (GF) 17

^{+) d.h. in Explantat, innerer und äußerer Proliferationszone wurden je 1.700 Kerne bewertet.}

Anmerkung: Es sind zahlreiche Zellkerne mit mehreren Nucleoli vorhanden. Außerdem treten vermehrt Riesenkerne auf, besonders häufig in der äußeren Proliferationszone, die jedoch meistens Geschlechtschromatin-negativ sind.

T 562

Histologie: Teils arachnotheliales, regressiv verändertes Rückenmarksmeningeom teils, mehr fibromatöses Erscheinungsbild; die Zellen sind jedoch deutlich plumper als bei einem fibromatösen Meningeom; wenig Zwiebelschalenstrukturen und Psammome.

Gewebekultur: Bereits am 3. Tag lebhaft e epitheloide Proliferation um die kleinen aufgelockerten Explantate. Ende der 2. Woche sind große Teile der Deckgläser bewachsen. In Explantatnähe sind die isomorphen Zellen zu lockeren Bündeln angeordnet, in der Peripherie bilden sie ein großzügiges retikuläres System; vielfach isolierte, oft polyploide Fibroblasten; völlige Isomorphie der Zellkerne.

Chromosomenanalyse: (7. Tag) Überwiegend G-Monosomie; daneben kleinere normale weibliche Zelllinie.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 3., 8., 15. und 17. Tag. Es wurden insgesamt 24 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
3. Tag	21,2 %	25,4 %	28,9 %	300
8. Tag	13,5 %	9,1 %	4,9 %	900
15. Tag	13,1 %	8,0 %	2,9 %	1.000
17. Tag	7,5 %	10,5 %	0,5 %	200
Mittelwert:	13,8 %	13,3 %	9,3	2.400 (x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	164,0/GF	30,0/GF	5,6/GF	GF 20

Anmerkung: Die Explantate sind schwierig auszuwerten, da sie noch eine sehr dichte Struktur aufweisen. Die Zellkerne werden zum Wachstumsrand hin deutlich größer, zeigen viele Nucleoli, jedoch seltener Geschlechtschromatin.

T 582

Histologie: Isomorphes etwas atypisches arachnotheliales Rückenmarks-Meningeom mit zahlreichen Zwiebelschalen und typischen Psammomen.

Gewebekultur: Am 6. Tag sehr rege Zellproliferation aus den meist sehr kleinen zerfließenden Explantaten, die stark mit Psammomkörnern durchsetzt sind. Teilweise bilden die Zellen lockere retikuläre Netze, teilweise geschlossene Endothelschichten. Keine Kernpolymorphie, Polykaryen oder Riesenzellen. Im Verlauf der 2. Woche fast völliges Überwachsen der Deckgläser in Form eines geschlossenen epithelialen Monolayers mit isomorphen hellen Kernen.

Chromosomenanalyse: (7. Tag) Durchgehend Fehlen eines Chromosoms der G-Gruppe.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 6., 8. und 11. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 21 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
6. Tag	19,0 %	12,6 %	5,3 %	1.000
8. Tag	22,0 %	18,5 %	8,5 %	600
11. Tag	21,2 %	14,0 %	7,8 %	500
Mittelwert:	20,7 %	15,0 %	7,2 %	2.100 (x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	175,8/GF	31,3 /GF	3,8/GF	GF 18

T 600

Histologie: Typisches arachnotheliales Meningeom mit starken regressiven Veränderungen.

Gewebekultur: Am 4. Tag noch relativ spärliche Zellproliferation und nur mäßige Auflockerung der Explantate. Die Zellen wachsen radiär als "Spieße" aus den Explantaten aus; Vermischung mit Fibroblasten.

Am Ende der 2. Woche sind die Deckgläser völlig bewachsen; fast völlige Kernisomorphie; Rückgang der Mitosenhäufigkeit.

Chromosomenanalyse: (8. Tag) Überwiegend normaler Chromosomensatz, daneben einige Zellen mit einer G-Monosomie.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 7. und 14. Tag. Es wurden insgesamt 13 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
4. Tag	31,0 %	19,0 %	25,0 %	200
7. Tag	26,0 %	13,6 %	11,8 %	500
14. Tag	28,0 %	18,4 %	6,2 %	600
Mittelwert:	28,3 %	17,0 %	14,3 %	1.300(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	141,8/GF	28,0/GF	3,5/GF	GF 19

T 623

Histologie: Typisches arachnotheliales Inselmeningeom; zwei unterschiedliche Inseltypen; Ausbildung von Stroma; geringe regressiv Veränderungen.

Gewebekultur: Am 3. Tag bereits sehr typisches lebhaftes Wachstum und Ausbildung einzelner epithelialer Monolayer mit isomorpher Kernstruktur. Am Ende der 2. Woche Ausbildung der typischen epithelialen Struktur. In äußeren Bezirken zahlreiche Polykaryen mit oft über 20 völlig isomorphen Kernen.

Chromosomenanalyse: (7. und 14. Tag) Ausschließlich normaler männlicher Chromosomensatz.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 3., 7. und 14. Tag. Es wurden insgesamt 8 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
3. Tag	1,3 %	3,0 %	5,7 %	300
7. Tag	0,7 %	3,3 %	2,7 %	300
14. Tag	0,0 %	1,5 %	0,5 %	200
Mittelwert:	0,7 %	2,6 %	3,0 %	800(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	179,0/GF	26,2/GF	3,5/GF	GF 16

Anmerkung: Die Explantate weisen einen sehr dichten Zellverband auf, so daß sie schwierig auszuwerten sind.

T 658

Histologie: Regressiv stark verändertes arachnotheliales Meningeom mit zahlreichen nekrotischen Veränderungen und Psammomen.

Gewebekultur: Am 4. Tag bereits lebhaftes Proliferation von zwei unterschiedlichen Zelltypen: einmal Ausfließen eines epithelialen Monolayers,

zum anderen bei scharfkantigen Explantaten lockeres Auswachsen von isoliert liegenden Astrozyten-ähnlichen bipolaren Zellen.

Mitte der 2. Woche an einigen Explantaten Makrophagen, Fibroblasten und noch immer Astrozyten-ähnliche Zellen, an anderen enorme Proliferation zum Teil syncytial wachsender typischer Meningeomzellen.

Chromosomenanalyse: (5. Tag) Einheitlicher Verlust eines Chromosoms der G-Gruppe.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 8., 11. und 13. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 10 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Äreal
		innen	außen	
4. Tag	39,7 %	38,0 %	31,3 %	300
8. Tag	Ø	14,0 %	8,3 %	300
11. Tag	Ø	15,3 %	11,3 %	300
13. Tag	Ø	36,0 %	17,0 %	100
Mittelwert:	39,7 %	25,8 %	12,8 %	1.000(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	144,3/GF	19,6/GF	3,2/GF	GF 15

Anmerkung: Die Explantate am 8., 11. und 13. Tag waren nicht auszuwerten.

T 465

Histologie: Fibromatöses Meningeom mit nur angedeuteter arachnothelialer Inselbildung, vereinzelt Psammome.

Gewebekultur: Bereits am 2. Tag rege Proliferation unter gleichmäßigem Ausfließen der Explantate. In den folgenden Tagen starkes Wachstum des Zellkranzes im Sinne einer epithelialen Monolayers. In den Außenzonen

Auflockerung in kleine zum Teil bikonkave plumpe Zellen, die sich nur noch an ihren Ecken berühren.

Chromosomenanalyse: (5. Tag) Einheitlicher Verlust je eines Chromosoms der G- und D-Gruppe.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 2., 9., 12. und 30. Wachstums- tag. Es wurden insgesamt 18 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
2. Tag	Ø	4,2 %	1,2 %	500
9. Tag	3,0 %	3.3 %	3.7 %	300
12. Tag	0.7 %	0,7 %	2.3 %	300
30. Tag	0,5 %	1,0 %	2,3 %	300
Mittelwert:	1,4 %	2,3 %	2,4 %	1.800(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	48,8/GF	15,2/GF	4,2/GF	GF 16

Anmerkung: Die Explantate am 2. Wachstumstag waren nicht auswertbar.

T 543

Histologie: Psammomatöses Meningeom auf der Basis eines arachnothelial- fibromatösen Mischtumors.

Gewebekultur: Am 4. Tag gleichmäßiges Ausfließen der überwiegend sehr kleinen Explantate zu einem für ein arachnotheliales Meningeom typi- schen Zellbild. Zahlreiche Mitosen; mehrkernige Riesenzellen und Polyka- ryen mit Überwiegend isomorphen kleinen Einzelkernen.

Am 14. Tag völliges Bewachsen der Deckgläser in einem geschlossenen Monolayer, der eine histologische Struktur in Strömen und Strudeln ohne Kontakthemmung ausgebildet hat. Zellgrenzen schwer zu erkennen.

Chromosomenanalyse: (4. Tag) Normaler weiblicher Chromosomensatz neben einer G-monosomen Zelllinie.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 7., 14. und 18. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 38 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Area1
		innen	außen	
4. Tag	20,7 %	19,4 %	12,6 %	1.000
7. Tag	16,3 %	17,2 %	10,9 %	800
14. Tag	16,2 %	14,2 %	10,4 %	1.400
18. Tag	15,8 %	16,9 %	13,8 %	600
Mittelwert:	17,1 %	16,9 %	12,0 %	3.800(x3)
Zelldichte				Anzahl der
(Mittelwert)	46,0/GF	25,8/GF	9,3/GF	GF 16

T 579

Histologie: Regressiv verändertes fibromatöses Meningeom.

Gewebekultur: Am 5. Tag bereits lebhafte Zellproliferation aus überwiegend kleinen, zerfließenden Explantaten. Es findet sich eine nicht sehr ausgeprägte, jedoch deutliche Kernpolymorphie. Alle Kerne sind hell und haben ovale klar begrenzte Nukleolen.

Am 18. Tag besteht eine für ein Meningeom völlig atypische Zell- und Kernpolymorphie. In der Peripherie finden sich isoliert liegende Riesenzellen.

Chromosomenanalyse: (6. Tag) Drei Stammlinien: Normale Zellen; Zellen mit einer G-Monosomie, sowie eine dritte Linie mit G-Monosomie und einem überzähligen C-Chromosom.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 5., 7., 12. 18. und 21. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 26 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Area1
		innen	außen	
5. Tag	26,8 %	13,5 %	11,2 %	600
7. Tag	20,8 %	13,7 %	7,5 %	600
12. Tag	14,0 %	7,5 %	7,0 %	400
18. Tag	12,1 %	8,5 %	5,0 %	600
21. Tag	9,0 %	9,5 %	9,0 %	400
Mittelwert:	16,5 %	10,5 %	7,9 %	2.600(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	64,0/GF	23,0/GF	3,8/GF	GF 14

Anmerkung: Es sind vereinzelt zwei Geschlechtschromatinkörperchen pro Zellkern zu finden.

T 585

Histologie: Regressiv verändertes fibromatöses Meningeom; starke Kollagenisierung und reichlich Zwiebschalenstrukturen.

Gewebekultur: Am 4. Tag bereits starkes Zerfließen auch größerer Explantate. Vom Explantat ausgehende lebhaftere Zellproliferation, epithelial flächig ohne radiären Saum. Zahlreiche Mitosen, die vielfach Anaphasebrücken und sonstige pathologische Veränderungen aufweisen.

Am 13. Tag Umgruppierung des Monolayers in kleinere zelldichte Inseln. Gelegentlich Auftreten mehrkerniger Zellen und Schleierzellen (=Fibroblasten?).

Chromosomenanalyse: (8. Tag) Neben einer kleinen normalen Zelllinie findet sich überwiegend der Chromosomensatz 42,XX,-G,-C,-D,-F.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 7., 15. und 17. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 22 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Area1
		innen	außen	
4. Tag	5,2 %	8,0 %	7,1 %	700
7. Tag	7,9 %	7,7 %	5,8 %	600
15. Tag	7,2 %	5,0 %	2,4 %	600
17. Tag	5,7 %	4,3 %	2,7 %	300
Mittelwert:	6,5 %	6,3 %	5,2 %	2.200(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	139,8/GF	32,8/GF	4,3/GF	GF 17

T 616

Histologie: Typisches fibromatöses, zellreiches Meningeom ohne regressive Veränderungen. Wirbelbildung, vereinzelt Zwiebschalenstrukturen und Psammome.

Gewebekultur: Am 4. Tag typisches Zerfließen der kleinen Explantate und Proliferation einer gleichmäßigen epithelialen Zellschicht. Zwischen typischen Meningeomzellen sind große Fibroblasten und nach außen vorgeschoben ein mehr oder weniger dichter Makrophagenwall zu finden.

Am Ende der 2. Woche typisch epitheliales Wachstum in großen geschlossenen Monolayern. Geringgradige jedoch deutliche Kernanisomorphie.

Chromosomenanalyse: (8. und 15. Tag) Mosaikbildung: 44,XX,-G,-C / 43,XX,-G,-2C.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 7. und 14. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 17 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Area1
		innen	außen	
4. Tag	14,6 %	17,0 %	8,7 %	600
7. Tag	7,3 %	6,8 %	6,6 %	700
14. Tag	4,8 %	5,0 %	4,8 %	400
20. Tag	Ø	10,5 %	10,0 %	200
Mittelwert:	8,9 %	9,8 %	7,5 %	1.900(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	86,0/GF	24,8/GF	4,2/GF	GF 15

Anmerkung: Bei der Zelldichtebestimmung wurden in der inneren und äußeren Proliferationszone nur Tumorzellen berücksichtigt.

T 659

Histologie: Sehr gefäßreiches isomorphes epithelial-strukturarmes Meningeom mit faserigem syncytialem Grundcytoplasma; starke Vaskularisierung und geringe regressive Veränderungen.

Gewebekultur: Am 6. Tag lebhaftige Zellproliferation unter Ausfließen der Explantate. Schlanke, zunächst in Strömen wachsende bipolare Zellen, über weite Strecken große Ähnlichkeit mit einem arachnothelialen Menin-

geom, in einigem Abstand von den Explantaten, Strukturen, die denjenigen eines Lindau-Tumors ähneln.

Am 13. Tag erhebliche Nekrobiose unter Ausbildung verklumpter Syncytien und Polykaryen.

Chromosomenanalyse: (8. Tag) Einheitlicher Chromosomensatz 40,XX,-G,-A,-D,-3C, neben einer kleinen normalen Stammlinie.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 6., 10. und 13. Tag. Es wurden insgesamt 8 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Area1
		innen	außen	
6. Tag	2,5 %	5,2 %	2,5 %	400
10. Tag	2,0 %	2,3 %	1,0 %	300
13. Tag	0,0 %	1,0 %	1,0 %	100
Mittelwert:	1,5 %	2,8 %	1,5 %	800(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	123,8/GF	18,6/GF	4,5/GF	GF 15

T 759

Histologie: Meningeom im Sinne eines arachnothelial-fibromatösen Übergangstyps. Mäßige Kernanisomorphie, geringe regressive Veränderungen.

Gewebekultur: Bereits am 4. Tag ungewöhnlich starkes Wachstum der Kulturen; die Deckgläser sind bereits fast völlig bewachsen. Nur an wenigen Explantaten meningeomartige Proliferation. Die Zellen bilden in kurzer Entfernung vom Explantat bis zur Peripherie eine netzartige Struktur ähnlich einem protoplasmatischen Astrozytom. Die Kerne sind sehr einheitlich, gelegentlich isomorphkernige Polykaryen.

Am 11. Tag Beginn regressiver Veränderungen. In der Peripherie lebhafteste Fibroblastenproliferation.

Chromosomenanalyse: (6. Tag) Mosaikbildung: 41,XX,-G,-C,-2D,-F / 40,XX,-G,-2C,-2D,-F / 42,XX,-G,-2D,-F.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 4., 6., 8. und 13. Wachstumstag.

Es wurden insgesamt 17 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone innen außen		Kerne/Area1
4. Tag	30,1 %	27,4 %	11,4 %	700
6. Tag	31,6 %	26,6 %	5,0 %	500
8. Tag	25,5 %	29,0 %	8,5 %	200
13. Tag	31,7 %	32,7 %	16,3 %	300
Mittelwert:	29,7 %	28,9 %	10,3 %	1.700(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	89,0/GF	25,5/GF	8,5/GF	GF 12

T 796

Histologie: Typisches epitheloid-strukturarmes Meningeom mit großen Inseln, die durch Stromabänder voneinander getrennt sind. Relativ große Kerne.

Gewebekultur: Am 3. Tag nur geringe Tendenz zum Ausfließen der Explantate. Proliferation schlanker spongioblastenähnlicher Zellen, jedoch mit typischen plumpen Meningeomkernen, die Zelle in Kernhöhe ausbeulend.

Am 8. Tag Ausbildung einerseits einer Struktur, die einem fibromatösen Meningeom ähnelt, andererseits atypische epitheloide Zellen. In der Peri-

pherie zahlreiche Makrophagen und vereinzelt Fibroblasten.

Chromosomenanalyse: (7. Tag) Vorwiegend eine Zelllinie: 40,XX,-2G,-2C,-2D.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 3., 6. und 8. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 10 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
3. Tag	6,3 %	5,5 %	0	400
6. Tag	1,0 %	1,8 %	2,0 %	400
8. Tag	2,5 %	5,5 %	1,0 %	200
Mittelwert:	3,3 %	4,3 %	1,5 %	1.000(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	75,3/GF	36,6/GF	4,6/GF	GF 8

Anmerkung: Am 3. Tag war der Wachstumssaum noch so schmal, daß innere und äußere Proliferationszone nicht zu trennen waren.

T 919

Histologie: Epitheloid-strukturarmes Meningeom mit großen Inseln und ungewöhnlich großen hellen Kernen.

Gewebekultur: Bis zum 6. Tag recht spärliches aber typisch epitheloides Wachstum unter Ausfließen der Explantatränder und paralleler Anordnung zunächst recht schmaler arachnothelialer Zellen mit isomorphen Kernen. Auftreten von isomorphkernigen Polykaryen und zahlreichen Makrophagen.

Am 9. Tag deutliche Vergrößerung der Wachstumszone, Keine Zunahme der Anisomorphie.

Chromosomensatz: (7. Tag) Einheitlicher Chromosomensatz: 43,XX,-G,-D,-C.

Geschlechtschromatin: Untersuchungen am 3. und 9. Wachstumstag. Es wurden insgesamt 11 Explantate untersucht.

Zeitpunkt	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
3. Tag	2,0 %	5,0 %	2,0 %	600
9. Tag	4,0 %	2,0 %	1,0 %	500
Mittelwert:	3,0 %	3,5 %	1,5 %	1.100(x3)
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	84,2/GF	25,3/GF	6,3/GF	GF 10

(Vergleichsmaterial):

F 114

Gewebeart: Hautbiopsie aus dem Unterarm eines nach 16 Tagen verstorbenen Kindes. Klinischer Befund: Multiple Mißbildungen v.a. des Urogenitalsystems.

Geschlecht: Weiblicher Chromosomenbefund ohne strukturelle Veränderungen.

Geschlechtschromatin: Es wurde die 5. Subkultur am 10. Wachstumstag untersucht. Es wurden 3 Explantate ausgewertet.

Zeitpunkt (Mittelwert)	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
10. Tag	19,0 %	20,3 %	16,7 %	300
Zelldichte:				Anzahl der
(Mittelwert)	93,0/GF	49,0/GF	5,7/GF	GF 7

Anmerkung: Es handelte sich bei der Kultur um eine reine Fibroblastenkultur.

M 002

Gewebeart: Hirnhäute eines Foeten ohne weitere Angaben.

Geschlecht: männlich

Geschlechtschromatin: Die Untersuchung fand nach dem 5. Wachstumstag statt. Es konnte aus Materialmangel nur 1 Explantat untersucht werden.

Zeitpunkt (Mittelwert)	Explantat	Proliferationszone		Kerne/Areal
		innen	außen	
5. Tag	Ø	3,0 %	2.0 %	100

Anmerkung: Eine Zelldichtebestimmung wurde nicht durchgeführt.

Tabelle 1: Tabellarischer Vergleich der cytogenetischen, histologischen und Geschlechtschromatin-Befunde bei 15 Meningeomen.

Nummer	Karyotyp	Histologie	Geschlechtschromatin (X) ⁺		
			Explantat	Proliferationszone Innen	Proliferationszone außen
T 559	47: 46,XX 4: 45,XX,-G	Arachnotheliales Meningeom, Inselbildung, Zwielschalenstrukturen	29,9 %	26,7 %	9,3 %
T 562	52: 45,XX,-G 2: 46,XX	Arachnotheliales Meningeom, wenig Zwielschalenstrukturen und Psammome	13,8 %	13,3 %	9,3 %
T 582	46: 45,XX,-G	Arachnotheliales Meningeom, zahlreiche Zwielschalenstrukturen und Psammome	20,7 %	15,0 %	7,2 %
T 600	73: 46,XX 5: 45,XX,-G 4: 45,XX,-C	Arachnotheliales Meningeom, zahlreiche Zwielschalenstrukturen und Psammome, starke Kollagenisierung	28,3 %	17,0 %	14,3 %
T 623	49: 46,XY 3: 45,XY,-G 3: 45,XY,-C	Arachnotheliales Meningeom, Inselbildung, geringe regressive Veränderungen.	0,7 %	2,6 %	3,0 %
T 658	75: 45,XX,-G 3: 90,XXX,-2G	Arachnotheliales Meningeom, zahlreiche Psammome	39,7 %	25,8 %	12,8 %
T 465	49: 44,XY,-G,-D	Arachnothelial-fibromatöses Meningeom, Inselbildung, vereinzelt Psammome	1,4 %	2,3 %	2,4 %

⁺) Die prozentualen Mittelwerte wurden unter Einbeziehung der Zeitreihe (Längsschnittuntersuchung) gebildet.

Tabelle 1: Fortsetzung

Nummer	Karyotyp	Histologie	Geschlechtschromatin		
			Explantat	Proliferationszone innen	außen
T 543	17: 45,XX,-G 8: 46,XX	Arachnothelial-fibromatöses Meningeom, zahlreiche Psammome.	17,1 %	16,9 %	12,0 %
T 579	68: 46,XX,-G,+C 7: 45,XX,-G 5: 46,XX	Fibromatöses Meningeom, starke regressive Veränderungen	16,5 %	10,5 %	7,9 % ⁺
T 585	48: 42,XX,-G,-D,-C,-E 1: 46,XX	Fibromatöses Meningeom, starke regressive Veränderungen	6,5 %	6,3 %	5,2 %
T 616	73: 44,XX,-G,-C 13: 43,XX,-G,-2C	Fibromatöses Meningeom, Wirbelbildung, vereinzelt Zwielschalenstrukturen und Psammome	8,9 %	9,8 %	7,5 %
T 659	14: 40,XX,-G,-A,-D,-3C 6: 46,XX 1: 80,XXX,-2G,-2A,-2D,-6C	Epitheloid-strukturarmes Meningeom, keine regressive Veränderungen	1,5 %	2,8 %	1,5 %
T 759	10: 41,XX,-G,-C,-2D,-F 5: 40,XX,-G,-2C,-2D,-F 1: 42,XX,-G,-2D,-F	Epitheloid-strukturarmes Meningeom, geringe regressive Veränderungen	29,7 %	28,9 %	10,3 %
T 796	11: 40,XX,-2G,-2C,-2D 1: 40,XX,-2G,-3C,-D	Epitheloid-strukturarmes Meningeom, Inselbildung	3,3 %	4,3 %	1,5 %
T 919	18: 43,XX,-G,-C,-D 1: 46,XX	Epitheloid-strukturarmes Meningeom, großflächige Inselbildung	3,0 %	3,5 %	1,5 %

⁺) vereinzelt 2 Geschlechtschromatinkörperchen pro Zellkern

Tabelle 2: Tabellarischer Vergleich der Geschlechtschromatinhäufigkeit in Abhängigkeit von der Zelldichte bei 15 Meningeomen

Nummer	Explantat		Proliferationszone			
	GC	ZD	innen		außen	
	GC	ZD	GC	ZD	GC	ZD
T 559	29,9 %	164,6/GF	26,7 %	30,8/GF	9,3 %	6,0/GF
T 562	13,8 %	164,0/GF	13,3 %	30,0/GF	9,3 %	5,6/GF
T 582	20,7 %	175,8/GF	15,0 %	31,3/GF	7,2 %	3,8/GF
T 600	28,3 %	141,8/GF	17,0 %	28,0/GF	14,3 %	3,5/GF
T 623	0,7 %	179,0/GF	2,6 %	26,2/GF	3,0 %	3,5/GF
T 658	39,7 %	144,3/GF	25,8 %	19,6/GF	12,8 %	3,2/GF
T 465	1,4 %	48,8/GF	2,3 %	15,2/GF	2,4 %	4,2/GF
T 543	17,1 %	46,0/GF	16,9 %	25,8/GF	12,0 %	9,3/GF
T 579	16,5 %	64,0/GF	10,5 %	23,0/GF	7,9 %	3,8/GF
T 585	6,5 %	139,8/GF	6,3 %	32,8/GF	5,2 %	4,3/GF
T 616	8,9 %	86,0/GF	9,8 %	24,8/GF	7,5 %	4,2/GF
T 659	1,5 %	123,8/GF	2,8 %	18,6/GF	1,5 %	4,5/GF
T 759	29,7 %	89,0/GF	28,9 %	25,5/GF	10,3 %	8,5/GF
T 796	3,3 %	75,3/GF	4,3 %	36,6/GF	1,5 %	4,6/GF
T 919	3,0 %	84,2/GF	3,5 %	25,3/GF	1,5 %	6,3/GF

Abkürzungen: GC = Geschlechtschromatin

ZD = Zelldichte

GF = Gesichtsfeld

Tabelle 3: Tabellarischer Vergleich der absoluten und relativen Geschlechtschromatinhäufigkeit in der Zeitreihe bei 7 Meningeomen.

a) Explantatbereich:

Nummer	1 ⁺)		2		3		4		5	
	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
T 543	20,7	100,0	16,3	78,7	16,2	78,3	15,8	73,4		
T 559	32,0	100,0	29,3	91,6	27,8	86,8	30,5	95,3		
T 562	21,2	100,0	13,5	63,4	13,1	61,5				
T 579	26,8	100,0	20,8	77,6	14,0	52,2	12,1	45,1	9,0	33,6
T 582	19,0	100,0	22,0	105,3	21,2	110,5				
T 600	31,0	100,0	26,0	83,9	28,0	90,3				
T 759	30,1	100,0	31,6	105,0	25,5	84,7	31,7	105,3		

b) Innere Proliferationszone:

Nummer	1 ⁺)		2		3		4		5	
	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
T 543	19,4	100,0	17,2	88,7	14,2	73,2	16,9	87,1		
T 559	27,4	100,0	25,0	91,2	24,0	87,6	30,5	111,3		
T 562	25,4	100,0	9,1	35,7	8,0	31,4	10,5	41,2		
T 579	13,5	100,0	13,7	101,5	7,5	55,6	8,5	63,0	9,5	70,4
T 582	12,6	100,0	18,5	146,9	14,0	111,1				
T 600	19,0	100,0	13,6	71,6	18,4	96,9				
T 759	27,4	100,0	26,6	97,1	29,0	105,8	32,7	119,3		

c) Äußere Proliferationszone:

Nummer	1 ⁺)		2		3		4		5	
	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
T 543	12,6	100,0	10,9	86,5	10,4	82,5	13,8	109,5		
T 559	10,4	100,0	8,0	76,9	7,8	75,0	11,0	105,8		
T 562	28,9	100,0	4,9	17,0	2,9	10,0				
T 579	11,2	100,0	7,5	67,0	7,0	62,5	5,0	44,6	9,0	80,4
T 582	5,3	100,0	8,5	160,4	7,8	147,2				
T 600	25,0	100,0	11,8	47,2	6,2	24,8				
T 759	11,4	100,0	5,0	43,9	8,5	74,6	16,3	143,0		

Die Geschlechtschromatinhäufigkeit zum Zeitpunkt "1" wurde jeweils 100% gleichgesetzt (vgl. S. 14).

Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Geschlechtschromatinhäufigkeit von der Züchtungsdauer (vgl. Tabelle 3a)

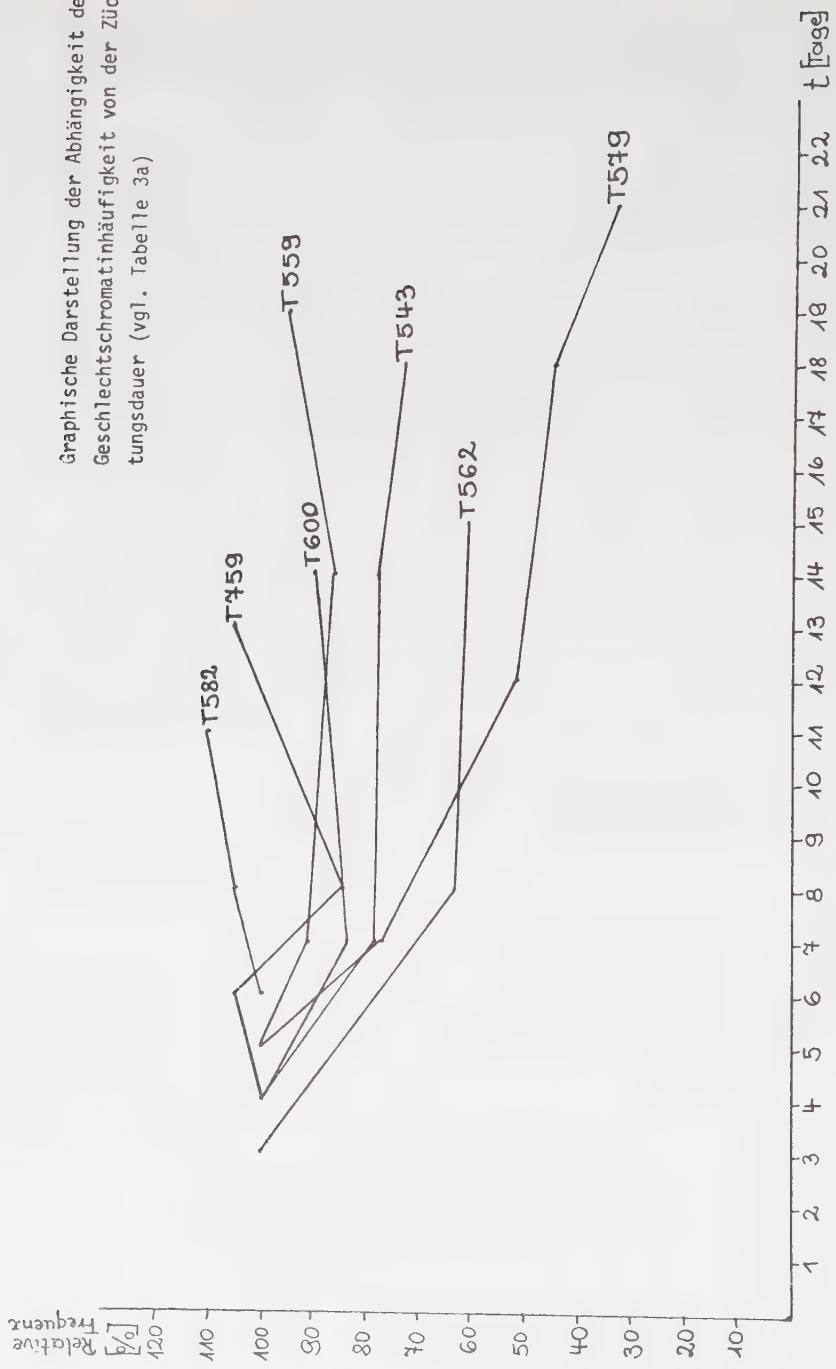


Diagramm 1

Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Geschlechtschromatinhäufigkeit von der Züchtungsdauer (vgl. Tabelle 3b)

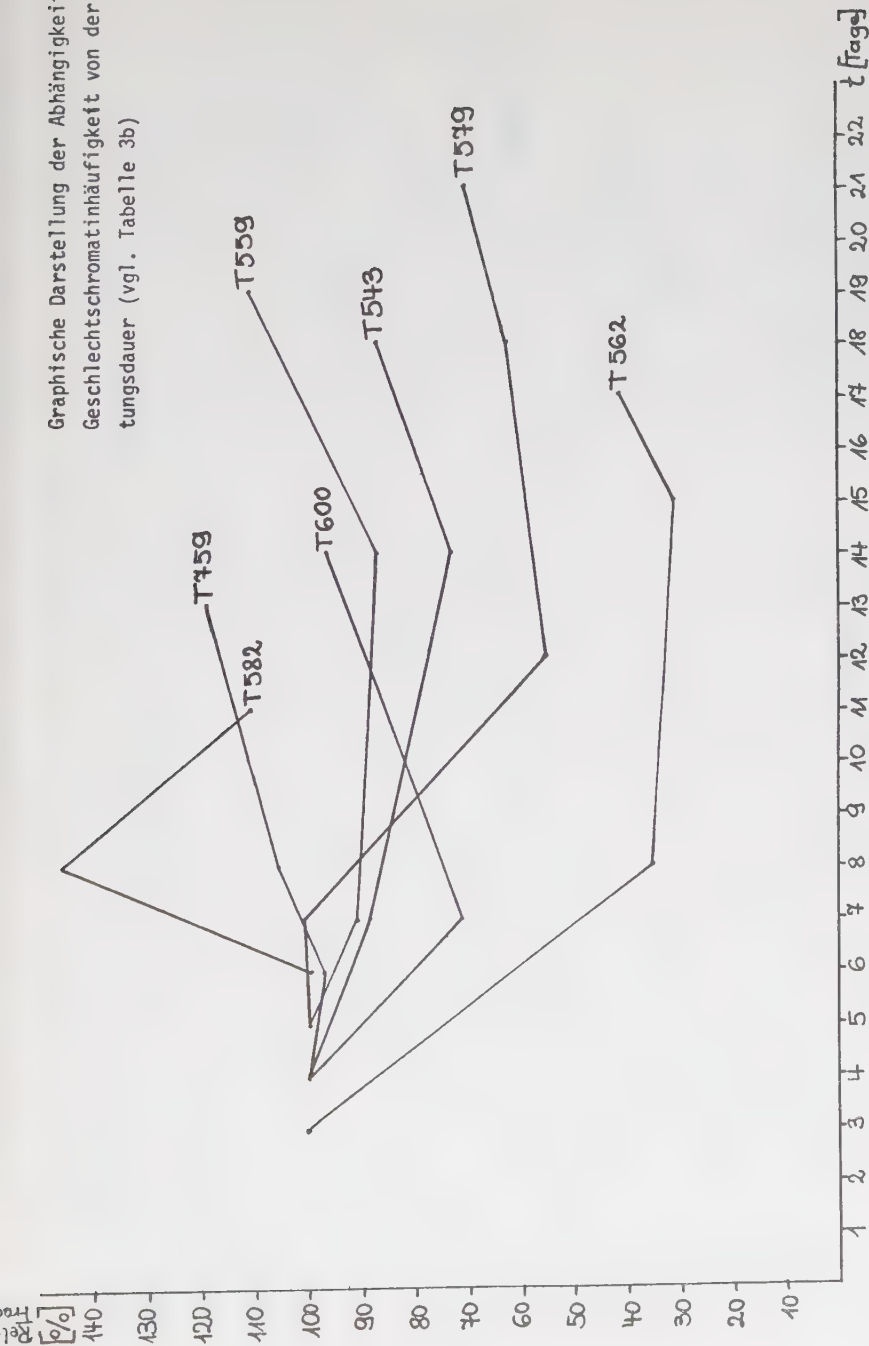
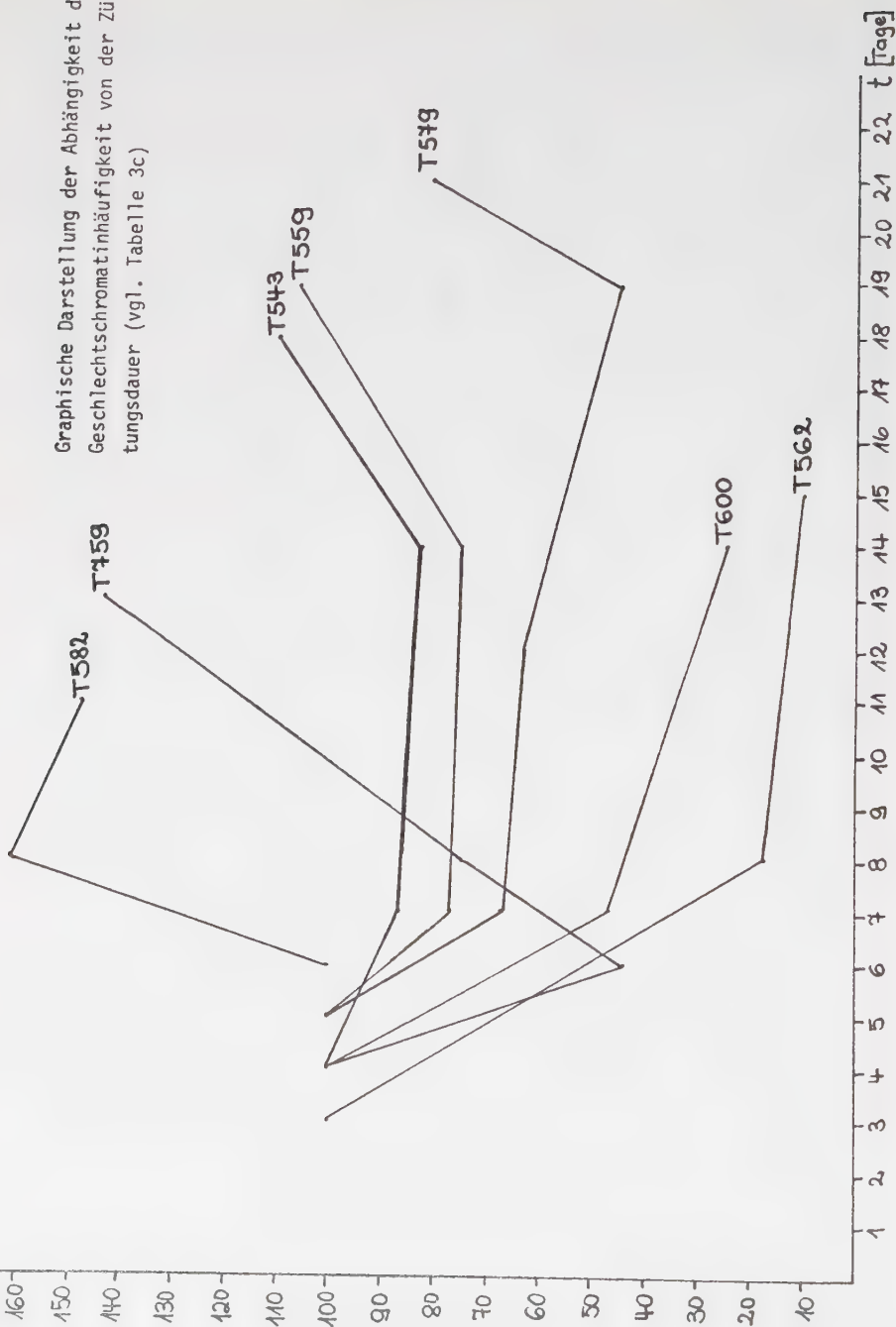


Diagramm 2

- Relativ
- Frage



V. DISKUSSION

1. Diskussion der Fragestellung

Es ist bekannt, daß nie alle Zellen eines weiblichen Gewebes einen positiven Geschlechtschromatinbefund zeigen. Dies gilt auch für Gewebekulturen, bei denen kein Verlust der Geschlechtschromatin-Region durch Kernanschnitt möglich ist. Es gilt auch bei Anwendung selektiver Färbungen, die die zweifelsfreie Mitbewertung nicht randständigen Geschlechtschromatins erlauben. Für diese Tatsache sind in der Literatur eine Reihe von Gründen diskutiert worden, die zum Teil bereits widerlegt, zum Teil aber noch offen sind.

a) Die ursprüngliche Annahme, daß das heterochromatische zweite X-Chromosom während des Zeitraums der DNS-Replikation euchromatisch und damit unsichtbar werden muß, konnte experimentell weitgehend ausgeschlossen werden (vgl. COMINGS 1966, 1967; SCHWARZACHER und PERA 1970). b) Ebenso konnte aufgrund von Gewebekulturbefunden die Vermutung widerlegt werden, daß aufgrund der Geometrie und unvollständigen Transparenz der Zellkerne bei einem Teil der Zellen das Geschlechtschromatin nicht gefunden werden kann. (vgl. COMINGS 1967). c) Bei einem bestimmten Prozentsatz von Zellen, vor allem in rasch wachsenden Geweben, wie Zellkulturen oder Tumoren, könnte die starke Kondensierung und späte Replikation des zweiten X-Chromosoms verlorengehen. Dieses Phänomen könnte Ausdruck einer Reaktivierung dieses Chromosoms sein (COMINGS 1967, HEIL 1970). Diese Frage ist noch nicht endgültig geklärt; aufgrund autoradiographischer Befunde konnte jedoch gezeigt werden, daß auch in Geschlechtschromatin-negativen Kernen zumindest spät replizierende Orte von der Größe des Geschlechtschromatins noch nachzuweisen sind (vgl. SCHWARZACHER und PERA 1970). d) Weibliche Zellen könnten dadurch Geschlechtschromatin-negativ werden, daß bei ihnen das zweite inaktive X-Chromosom verloren geht.

In der vorliegenden Arbeit sollten in erster Linie die Punkte c und d geprüft werden, d.h. ob und inwieweit bei einem bekanntermaßen gutartigen, langsam, nicht infiltrierend und nicht metastasierend wachsenden menschlichen Tumor, Unterschiede in der Geschlechtschromatinhäufigkeit nachzuweisen sind. Dabei sollte untersucht werden, ob sich die Tumoren in vivo (Explantat) und in vitro (Zellkulturen) unterschiedlich verhalten, ob die Befunde von der Dauer der in vitro-Züchtung abhängen, und ob die Geschlechtschromatinhäufigkeit durch die bei jedem der untersuchten Tumoren genau geprüfte Chromosomenveränderung beeinflusst wird.

2. Kritische Stellungnahme zum Auswertungsverfahren

Bei der Darstellung der Methodik wurde bereits ausgeführt, daß bei jedem Tumor an zumindest drei Züchtungszeitpunkten die Geschlechtschromatinhäufigkeit untersucht wurde. Die genauen Zeitpunkte differieren um einige Tage zwischen den einzelnen Tumoren, was in erster Linie auf die unterschiedliche Proliferationsgeschwindigkeit zurückzuführen ist. Der Beginn der in vitro-Zellteilung und die initiale Proliferationsgeschwindigkeit sind aufgrund unserer Beobachtungen nicht bei allen Meningeomen gleich. Die ersten Präparate wurden erst dann entnommen und fixiert, wenn um die explantierten Partikel Zellkränze von mindestens 10 Zellreihen vorhanden waren. Zusätzliche Abweichungen von maximal 2 Tagen bei der Entnahme sind auf zwischenliegende Wochenenden zurückzuführen, da die Präparate ursprünglich für andere Fragestellungen gezüchtet worden waren, bei denen derartige Zeitabweichungen ohne Bedeutung waren.

Es war in manchen Fällen schwierig, die Zellen jeweils der inneren, bzw. äußeren Proliferationszone zuzuordnen, da während der ersten Züchtungszeit Areale als absolut peripher liegend anzusehen waren, die zu später-

ren Züchtungszeitpunkten in den geschlossenen Wuchsverband der inneren Proliferationszone einbezogen wurden. Ein wesentlicher Gesichtspunkt bei der Festlegung der Zonen war das Kriterium eines geschlossenen epitheloiden Wuchsverbandes. Der davon außerhalb liegende Bereich wurde als äußeres Proliferationsareal festgelegt.

Zusätzlichen Einfluß auf die prozentuale Häufigkeit des Geschlechtschromatins kann die Größe der Explantate bei ein und demselben Tumor ausüben. In der Methodik wurde bereits erwähnt, daß Explantate von Meningeomen im Gegensatz zu anderen untersuchten Biopsiematerialien in vitro zu einem stärkeren Zerfließen neigen, das um so ausgeprägter wird, je kleiner das Explantat ist. Es ist deshalb nicht auszuschließen, daß in stärker aufgelockerten Explantaten eine stärkere Mitoseaktivität in Gang gekommen ist, welche einen Einfluß auf die Geschlechtschromatinhäufigkeit ausübt hat.

Aufgrund der zahlreichen selbst durchgeführten und in der Literatur beschriebenen Geschlechtschromatinuntersuchungen an "männlichen" Geweben kann als gesichert angesehen werden, daß bei diesen keine Geschlechtschromatin-positiven Zellen zu erwarten sind. Es wurden deshalb in der vorliegenden Serie zwei Meningeome von männlichen Patienten mit ausgewertet, um anhand der dabei gefundenen Prozentsätze pseudo-positiver Zellen einen Anhaltspunkt für die zu erwartende Fehlerbreite fälschlich als positiv bewerteter Zellen bei "weiblichen" Meningeomen zu haben.

Die Geschlechtschromatinbestimmung an allen Meningeomen erfolgte mit kodierten Präparaten, ohne Information über den bereits vorher bestimmten Chromosomensatz. Insbesondere bestand keine Kenntnis darüber, ob der betreffende Tumor zusätzlich ein C-Chromosom (fragliches X-Chromosom) ver-

laren hatte. Leider liegt von keinem der in dieser Untersuchungsreihe ausgewerteten Meningeome eine Chromosomenautoradiografie vor, die aufgrund des Vorhandenseins oder Fehlens eines spät markierenden Chromosoms der Gruppe C einen sicheren Aufschluß über die Anzahl der vorhandenen X-Chromosomen hätte geben können. (Dies wurde aufgrund der hier vorliegenden Befunde im Rahmen einer weiteren Untersuchungsreihe mithilfe von Giemsa- und Fluoreszenz-Bandenfärbungen geprüft (ZANKL, SEIDEL und ZANG 1974 a und b) und die im folgenden postulierten X-Chromosomen-Verluste bestätigt).

3. Diskussion der Ergebnisse

- a) Die vorliegenden Befunde zeigen, daß nicht nur in den Proliferationszonen, sondern auch im Explantatbereich, der dem in vivo-Tumor entspricht, die Geschlechtschromatin-positiven Zellen innerhalb von wenigen Tagen unter Verringerung der Zelldichte abnehmen (vgl. Längsschnitt-Untersuchung Tab. 3a). Eine wesentlich deutlichere Abnahme findet man jedoch beim Vergleich der Zentralregion gegenüber der Peripherie der Wachstumszone (vgl. Querschnitts-Untersuchung Tab. 3a-c). Der letztere Befund bestätigt an Tumorzellkulturen die von einigen anderen Autoren an normalen primären menschlichen Zellkulturen gewonnene Beobachtung einer abnehmenden Geschlechtschromatinhäufigkeit zur Peripherie (KLINGER et al. 1958, 1967, 1968; SCHWARZACHER und PERA 1970).
- b) Beim Längsschnittvergleich der Geschlechtschromatinhäufigkeit in den einzelnen Wachstumszonen zeigt sich ein einheitlicher Trend; bei den hier untersuchten Primärkulturen von Meningeomen steigt nach Ablauf von etwa zwei Wochen die prozentuale Häufigkeit des Geschlechtschromatins wieder deutlich an (vgl. Diagramme 2 und 3). Dies ist auch in der

äußeren Proliferationszone der Fall, wo die Zellen noch nicht in engem Kontakt zueinander liegen (konfluieren). Es ist anzunehmen, jedoch nicht sicher zu beweisen, daß es sich hier um den Ausdruck eines allgemeinen Rückgangs der Zellteilungsaktivität handelt; in jedem Fall ist diese zunehmende Heterochromatisierung als Ausdruck einer noch nicht näher zu charakterisierenden Änderung im metabolischen Zustand der betreffenden Zellen aufzufassen (KLINGER et al. 1968).

- c) Ein wesentliches und völlig neues Ergebnis liefert der Vergleich der Geschlechtschromatinhäufigkeit mit dem jeweiligen Chromosomensatz der Zellkulturen. Bei vier von sechs Meningeomen, bei denen neben anderen, bevorzugt akrozentrischen Chromosomen, ein Chromosom der C-Gruppe verlorengegangen war, entspricht der Chromatinbefund demjenigen eines männlichen Gewebes (vgl. Tabelle 1). Es ist anzunehmen, wenn auch ohne autoradiografische Chromosomenmarkierung, bzw. ohne die damals noch nicht entwickelten Bandenfärbungen, nicht völlig zu sichern, daß es sich beim Verlust des betreffenden C-Chromosoms um ein X-Chromosom handelt. Als Arbeitshypothese scheint jedoch die Annahme zulässig, daß Meningeome neben dem Verlust eines Chromosoms 22 zum Verlust des zweiten X-Chromosoms neigen. (Diese Annahme konnte jetzt durch Bandenfärbungen an einer weiteren Meningeom-Serie bewiesen werden (ZANKL, SEIDEL und ZANG 1974 a und b)).

Dieser Befund zeigt eine interessante Analogie zu demjenigen an Lymphozytenkulturen von Frauen in sehr hohem Alter, bei denen ebenfalls gehäuft der Verlust des zweiten X-Chromosoms beobachtet worden ist (COURT BROWN 1966).

4. Schlußfolgerung

Die Ergebnisse lassen zwei Schlüsse zu:

- a) Die zeitlichen und örtlichen Unterschiede in der Geschlechtschromatinhäufigkeit bei "weiblichen" Tumoren können als Folge einer Auflockerung oder Verdichtung des Zellverbandes interpretiert werden, die Unterschiede in der Proliferationsgeschwindigkeit oder im metabolischen Zustand der Zellen wiedergeben, bzw. zur Folge haben.
- b) Ein völliger und irreversibler Verlust des Geschlechtschromatins bei weiblichen Tumoren ist mit sehr großer Wahrscheinlichkeit nicht auf den gleichen Mechanismus zurückzuführen, sondern als Folge des Verlusts des zweiten X-Chromosoms anzusehen. Es muß dabei offen bleiben, ob der Verlust dieses zweiten X-Chromosoms Folge der tumoralen Entartung oder Folge der Proliferationssteigerung ist. Eine sekundäre Proliferationssteigerung infolge des Verlustes des zweiten X-Chromosoms ist dagegen zumindest in dem hier vorliegenden Material unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Zelldichte weitgehend auszuschließen.

Unabhängig davon, ob der Geschlechtschromatin-negative Befund des Tumors einer Frau darauf zurückzuführen ist, daß das zweite X-Chromosom der Zellen verlorengegangen oder nur nicht mehr heterochromatisch ist, ist es grundsätzlich unzulässig von einem "männlichen" Tumor bei einem weiblichen Patienten zu sprechen, da für eine solche Feststellung nicht der Verlust eines X-Chromosoms, sondern das zusätzliche Auftreten eines Y-Chromosoms zu fordern wäre.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. An Primärkulturen von 15 in vitro gezüchteten menschlichen Meningeomen (13 ♀, 2 ♂) wurde die Geschlechtschromatinhäufigkeit unter gleichzeitiger Kontrolle der jeweiligen Zelldichte bestimmt. Untersucht wurden rund 80.000 Zellkerne.
2. Es konnte gezeigt werden, daß die Geschlechtschromatinhäufigkeit vom Explantat über den geschlossenen Monolayer der inneren Proliferationszone zur äußeren nicht konfluenten Zone hin signifikant abnimmt.
3. In der Zeitreihe zeigte sich eine initiale Abnahme der Geschlechtschromatinhäufigkeit auch in den sich auflockernden Explantaten, danach ein langsamer Wiederanstieg ab Ende der zweiten Woche.
4. Beide Phänomene werden nicht nur als Ausdruck einer unterschiedlichen Teilungsaktivität (Abnahme in der logarithmischen Wachstumsphase), sondern auch als Ausdruck eines unterschiedlichen nicht näher definierbaren metabolischen Zustandes der jeweiligen Zellen angesehen (Zunahme auch in den nicht konfluenten Randzonen nach zwei Wochen ohne signifikante Korrelation zur Zelldichte).
5. Vier weibliche Meningeome wiesen einen extrem niedrigen und auch im Zeitverlauf nicht ansteigenden Prozentsatz Chromatin-negativer Zellkerne auf. Bei der Chromosomenanalyse dieser Tumoren fand sich einheitlich der Verlust eines Chromosoms der C-Gruppe. Dieser Befund wird als Verlust des zweiten heterochromatischen X-Chromosoms interpretiert.
6. Die Befunde zeigen, daß auch bei gutartigen und einheitlich proliferierenden menschlichen Tumoren erhebliche Schwankungen in der Geschlechts-

chromatinhäufigkeit auftreten können. Sie zeigen weiter, daß der irreversible Verlust des Geschlechtschromatins nicht als Ausdruck einer zunehmenden Malignisierung aufgefaßt werden muß. Er kann vielmehr auf den anscheinend nicht seltenen Verlust des zweiten heterochromatischen X-Chromosoms zurückzuführen sein. Unter Berücksichtigung des gleichen Phänomens bei normalen Lymphozyten sehr alter Frauen könnte somit der Geschlechtschromatin-Verlust als Zell-Alterungs-Phänomen interpretiert werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- ATKIN, N.B.: Observations on sex chromatin in human tumors. Symposium on nuclear sex. London: Heinemann (1958)
- ATKIN, N.B.: Die chromosomale Basis von Sexchromatinabweichungen in menschlichen Tumoren. Wiener klin. Wschr. 76, 859 (1964)
- ATKIN, N.B.: Sex Chromatin in cervical smears. Acta cytologica 11, 435 (1967)
- ATKIN, N.B.: Sex Chromatin in female Breast Cancer. Lancet ii, 1145 (1967)
- BACIE, V.: Erfahrungen zum Problem des Sexchromatin. Wiener klin. Wschr. 76, 873 (1964)
- BAILEY, P.: Die Hirngeschwülste. Enke-Verlag: Stuttgart (1951)
- BARR, M.L. and BERTRAM, E.G.: Morphological distinction between neurones of the male and female and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature 163, 676 (1949)
- BARR, M.L. and MOORE, K.L.: Chromosomes, sex chromatin, and cancer. Canadian Cancer Conference. New York: Academic Press ii, 3 (1957)
- BARUFFI, J., BIGHETTI, S. and GONDIM, F.C.P.: Topographical study of sex chromatin in breast cancer. Tumor 57, 1 (1971)
- BERG, J.M., RIDLER, M.A.C. and Mc QUAID, A.: Sex-Chromatin. Nature 222, 896 (1969)
- BISHOP, A. and BISHOP, O.N.: Analysis of Tritium-labelled Human Chromosomes and Sex-Chromatin. Nature 199, 930 (1963)
- BLOMEL, G., TURCIC, G., REGELE, H. und VAGACS, H.: Zur Frage des Geschlechtsdimorphismus der Tumorzellen beim Mammakarzinom. Wien: Klin. Wschr. 75, 41 (1963)
- BROWN, R.G. and COLE, K.W.: Sex Chromatin and X-Chromosome Replication Patterns and Incidence of Sex-Chromatin in Canine Cell Cultures. J. of Cellular Physiol. 78, 79 (1971)

- BUSCH, W.: Sexchromatin beim vorbestrahlten und nicht bestrahlten Mammacarcinom der Frau. Schweiz. med. Wsch. 98, 339 (1968)
- del CAMPO, B. and GARCIA-RAMIREZ, O.E.: Fluctuations of the sex-chromatin during the menstrual cycle. Acta cytol. 9, 251 (1965)
- CAVALLI, I.J., WALDRIGNES, A., STUEBER, N. and MARGALLO, F.A.: Sex-chromatin and menstrual cycle. Lancet ii, 832 (1970)
- COMINGS, D.E.: The Inactive X-Chromosome. Lancet ii, 1137 (1966)
- COMINGS, D.E.: The duration of replication of the inactive X-Chromosome in humans based on the persistence of the heterochromatic sex chromatin body during DNA synthesis. Cytogenetics 6, 20 (1967)
- COMINGS, D.E.: Sex-chromatin, nuclear size and the cell cycle. Cytogenetics 6, 120 (1967)
- COURT BROWN, W.M., BUCKTON, K.E., JOCOBS, P.A. and TOUGH, I.M.: Chromosome studies in Adults... Eugenics Laboratory Memoirs 42, 1-91 (1966)
- DOKUMOV, S.J. and SPASOV, S.A.: Sex-chromatin and sex hormones. Amer. J. Obstet. gynec. 97, 714 (1967)
- EDWARDS, J.G.: Barr-bodies. Lancet i, 616 (1961)
- EHLERS, P.N. und HIENZ, H.A.: Zellkernmorphologisches Geschlecht und hormonelle Beeinflussbarkeit des Mammakarzinoms. Langenbecks Arch. Klin. Chir. 288, 485 (1958)
- EHLERS, P.N., HIENZ, H.A., HOCHBERG, C. und NURI, M.: Weitere Studien über die prakt. Konsequenzen der zellkernmorpholog. Untersuchungen d. Mamma-Ca. Der Chirurg 35, 271 (1964)
- EHLERS, P.N., NURI, M. und HOCHBERG, C.: An der chirurg. Uni. Klinik Heidelberg gesammelte Erfahrungen in der Behandlung d. Mammakarz. unter besonderer Berücksichtigung des Sexchromatins. Wiener klin. Wschr. 76, 870 (1964)
- ENGEL, E., CULBERTSON, J.C., MAHLEY, R.W. and FENICHEL, G.M.: Barr body studies from the hair. Lancet i, 789 (1970)
- EPSTEIN, C.: Inactivation of the X-chromosome. New Engl. J. Med. 286/6, 318 (1972)
- GEY, G.O.: An improved technique for massive tissue culture. Am J. Cancer 17, 752 (1933)

- GEY, G.O. and GEY, M.K.: The maintenance of human normal cells and tumor cells in continous culture. Am J. Cancer 27, 45 (1936)
- GLÄSER, A. und REDING, R.: Die Bedeutung der zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung für die Hormonbehandlung des Mammakarzinoms. Bruns Beiträge Klin. Chir. 209, 326 (1964)
- GOLOB, E. OH, W.S. und FISCHER, P.: Zur Frage der Sexchromatinfrequenz in Vaginalabstrichen neugeborener Mädchen. Wiener klin. Wschr. 52, 979 (1968)
- GRAF, R. und MARZOLI, G.P.: Das zellkernmorphologische Geschlecht von Tumoren endokrin beeinflubarer Organe. Bruns Beiträge Klin. Chir. 202, 242 (1961)
- GROSS, F., MAHRINGER, W., TREBIN, H. und BOHLE, A.: Zur Bedeutung der Barr'schen Zellkernkörper beim Brustkrebs der Frau. Dtsch. med. Wschr. 89, 1215 (1964)
- GROPP, H., HEIN, B. und WOLF, U.: Kerngröße und Sex-Chromatinhäufigkeit b. Mammacarcinom. Z. f. Krebsforschung. 68, 123 (1966)
- GROPP, H., WOLF, U. und PERA, F.: Untersuchungen über das Geschlechtschromatin und dem zugrundeliegenden Chromosomenstatus beim Mammakarzinom. Wiener klin. Wschr. 76, 863 (1964)
- GROPP, V.H., WOLF, U. und PERA, F.: Sex-Chromatin und Chromosomenstatus beim Mammakarzinom. Dtsch. med. Wschr. 90, 637 (1965)
- HARBERS, E. und SANDRITTER, W.: Gesteigerte Heterochromatisierung als pathogenetisches Prinzip. Dtsch. med. Wschr. 6, 269 (1968)
- HECKMANN, U., POPP, L. und UHLMANN, G.: Zur Häufigkeit Barrscher Zellkernkörper beim Mamma-Ca. Geburtsh. u. Frauenheilk. 25, 481 (1965)
- HEIL, B.: Spätreplicierendes X-Chromosom und Sexchromatinhäufigkeit beim Menschen. Humangenetik 9, 64 (1970)
- HIENZ, H.A.: Zur zellkernmorpholog. Geschlechtserkennung von Tumoren, speziell Mammacarcinomen. Wiener klin. Wschr. 76, 862 (1964)
- HIENZ, H.A.: Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung in Theorie und Praxis. Alfred Hüthig Verlag: Heidelberg (1959)
- HIENZ, H.A.: Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung an Tumoren. Med. Welt 16, 2803 (1965)

- HIENZ, H.A. und EHLERS, P.N.: Das zellkernmorphologische Geschlecht von Mamma- und Prostatakarzinomen. *Klin. Wschr.* 35, 985 (1957)
- JAMES, J.: The Sex-Chromatin: single or double? *Lancet* ii, 368 (1960)
- JAMES, J.: Sex-Chromatin in Breast Carcinoma. *Lancet* i, 929 (1966)
- KALLENBERGER, A.: Die Beurteilung der Mammakarzinome nach dem Gehalt an Kernen mit Geschlechtschromatin und Heterochromatin. *Wiener klin. Wschr.* 76, 873 (1964)
- KALLENBERGER, A.: Geschlechtschromatin beim Mammacarcinom. *Schweiz. med. Wschr.* 94, 1450 (1964)
- KALLENBERGER, A. und WENNER, R.: Geschlechtschromatin bei Mammakarzinom. *Schweiz. med. Wschr.* 96, 80 (1966)
- KERSTING, G.: Die Gewebezüchtung menschlicher Hirngeschwülste. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag (1961)
- KERSTING, G.: Tissue Culture and the Classification of Brain Tumors. Rep. Internat. Symp. on Classification of Brain Tumors, Köln 1964; *Acta Neurochir. Suppl.* X (1964)
- KIMEL, V.M.: Clinical cytological correlations of mammary carcinoma based upon sex-chromatin counts, a preliminary study. *Cancer (Philad.)* 10, 922 (1957)
- KLINGER, H.P.: The fine structure of the sex-chromatin body. *Exp. Cell Res.* 14, 207 (1958)
- KLINGER, H.P. and LUDWIG, K.S.: A universal stain for the sex-chromatin body. *Stain Technol.* 32, 235 (1957)
- KLINGER, H.P. and SCHWARZACHER, H.G.: The sex chromatin and heterochromatic bodies in human diploid and polyploid nuclei. *J. biophys. biochem Cytol.* 8, 345 (1960)
- KLINGER, H.P., SCHWARZACHER, H.G. and WEISS, J. DNA Content and Size of Sex Chromatin Positive Female Nuclei During the Cell Cycle. *Cytogenetics* 6, 1 (1967)
- KLINGER, H.P., DAVIS, J., GODHUBER, P. and DITTA, T.: Factors influencing mammalian X chromosome condensation and sex chromatin formation. I. The effect of in vitro cell density on sex chromatin frequency. *Cytogenetics* 7, 39 (1968)

- LENNOX, B.: Das Kerngeschlecht der Tumoren. in: OVERZIER, C.: Die Intersexualität. Stuttgart: Georg Thime-Verlag (1961)
- LOCHTRATH, H., ESSEN, H. v., SCHMITZ-FORMES, V. und WEIS, J.: Barrsche Körperchen und Tumorgeschlecht beim Mammakarzinom. Strahlentherapie Archiv f. klin. u. exp. Radiologie 137, 128 (1969)
- LYON, M.F.: Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). Nature (Lond.) 190, 372 (1961)
- LYON, M.F.: Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. Amer. J. hum. Genet. 14, 135 (1962)
- LYON, M.F.: Lyonisation of the X-Chromosome. Lancet ii, 1120 (1963)
- MARBERGER, E., BOCCABELLA, R.A. and NELSON, W.O.: Oral smears as a method of chromosomal sex detection. Proc. Soc. exper. Biol. 89, 488 (1955)
- MEYER-RUGE, W. und KALLENBERGER, A.: Das Mammakarzinom in seiner Relation zum pathologisch-anatomischen Bild und Sexchromatingehalt. Med. Welt 18, 871 (1967)
- MILES, C.P.: Sex-chromatin in cultured human tissues. Nature (Lond.) 184, 477 (1959)
- MILES, C.P.: Size of the Sex-Chromatin Body. Lancet ii, 660 (1962)
- MITTWOCH, U.: Barr bodies in relation to DNA values and nuclear size in cultured human cells. Cytogenetics 6, 38 (1967)
- MITTWOCH, U.: Sex-chromatin. J. Med. Genetics i, 50 (1964)
- MITTWOCH, U.: Barr bodies and nuclear size in cultured human fibroblasts. Nature 198, 975 (1963)
- MITTWOCH, U.: Sex-chromosomes and sex-chromatin. Nature (Lond.) 204, 1032 (1964)
- MITTWOCH, U.: Barr bodies and their relation to the nuclear size. Cytogenetics 3, 62 (1964)
- MITTWOCH, U.: Sex Chromosomes. Academic Press: New York-London (1967)
- MITTWOCH, U., LELE, K.P. and WEBSTER, W.S.: Relationship of Barr-bodies, nuclear size and DNA value in cultured human cells. Nature (Lond.) 205, 477 (1965)

- MOORE, K.L.: The Sex Chromatin. Philadelphia London: Verlag: W.B. Saunders Company (1966)
- MOORE, K.L. and BARR, M.L.: Nucleolar morphology according to the sex in human tissues. *Acta Anat.* 21, 197 (1954)
- MOORE, K.L. and BARR, M.L.: Smears from the oral mucosa in the detection of chromosomal sex. *Lancet* ii, 57 (1955)
- OHNO, S. and MAKINO, S.: The single-X nature of the sex chromatin in man. *Lancet* i, 78 (1961)
- PELZ, L.: Die normale Größe des X-Chromatins. *Dtsch. Gesundh. Wes.* 27/1, 38 (1972)
- PETERS, G.: Beitrag zur Pathologie und Klinik der Meningeome. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* 167, 83 (1951)
- REGELE, H.: Zur Frage des Sexchromatins im Mammacarcinom. *Der Chirurg* 35, 316 (1964)
- REGELE, H., DOMANIG, E. und LORBEK, W.: Aktuelle Fragen in der Hormontherapie des Mammarkarzinoms. *Der Chirurg* 34, 199 (1963)
- REGELE, H., KAUFMANN, F., VERDERBER, W. und WASL, H.: Erfahrungen mit Sexchromatin und Hormontherapie beim Mammarkarzinom. *Wien. klin. Wschr.* 76, 871 (1964)
- REGELE, H., KAUFMANN, F. und WASL, H.: Zur Problematik des Sex-Chromatin in Tumoren. *Krebsarzt* 19, 11 (1964)
- REGELE, H., VAGACS, H., BLOMEL, G. und TURCIC, G.: Zur Frage des Geschlechtsdimorphismus der Tumorzellen beim Mammarkarzinom. *Wien. klin. Wschr.* 73, 649 (1961)
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. Oldenburg-Verlag (1968)
- RUPPRECHT, G. und MARZOLI, P.C.: Das zellkernmorphologische Geschlecht von Tumoren endokrin beeinflubarer Organe. *Klin. Chir.* 202, 242 (1961)
- SANDBERG, A.A., HOSSFELD, D.K.: Chromosomal Abnormalities in Human Neoplasia. *Ann. Rev. Med.* 21, 379 (1970)
- SCHMID, W.: Sexchromatinbestimmung aus der Haarwurzel. *Experientia* 23, 319 (1967)

- SCHMID, W.: Sex-Chromatindarstellung aus Haaren. *Cytogenetics* 6, 343 (1967)
- SCHNEIDL, W.: Die DNS-Synthese im Sexchromatin. *Cytobiologie* 1, 115 (1969)
- SCHNEIDL, W.: Sexchromatin und Kerngröße im Zellzyklus. Kombinierte histophotometrische und autoradiographische Untersuchungen an menschlichen Fibroblastenkulturen. *Chromosoma* 27, 421 (1969)
- SCHONTUBE, N.: The technique of histologic studies on monolayer cultures. *Z. Med. Labortechnik* 12/5, 255 (1971)
- SCHÖLL, A., FISCHBACH, H., MÜRL, F., RIECKERT, H. und BOHLE, A.: Ergebnisse der Behandlung des Mammakarzinoms der Frau mit gegen geschlechtlichen Hormonen unter Berücksichtigung der Barr'schen Zellkernkörper. *Verh. dtsch. Ges. Path.* 52, 426 (1968)
- SCHWARZACHER, H.G.: Sex chromatin in living human cells in vitro. *Cytogenetics* 2, 117 (1963)
- SCHWARZACHER, H.G.: Sexchromatin in polyploiden Zellen. *Humangenetik* 2, 28 (1966)
- SCHWARZACHER, H.G.: Sexchromatin und Chromosomen in normalen Geweben des Menschen. *Wiener klin. Wschr.* 76, 857 (1964)
- SCHWARZACHER, H.G. und WOLF, U.: Methoden in der medizinischen Cytogenetik. Springer-Verlag (1970)
- SCHWARZACHER, H.G. und PERA, F.: Das Problem der Sexchromatin-negativen Zellen. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 132, 18 (1970)
- SEEBACH, H.B. und MÖLLER, H.A.: Barrkörperchen und Chromatinstrukturen in benignen und malignen Mamma-Tumoren. *Zeitschrift f. Krebsforschung* 68, 25 (1966)
- SINGER, H. und ZANG, K.D.: Cytologische und cytogenetische Untersuchungen an Hirntumoren. I. Die Chromosomenpathologie des menschlichen Meningeoms. *Humangenetik* 9, 172 (1970)
- SIRACKA, E., SIMKO, J. and SIRACKY, J.: The Importance of Sex-Chromatin Determination in the Hormonal Treatment of Breast Cancer. *Neoplasma* 17, 625 (1970)
- SIRACKY, J.: Sex Chromatin in Cancer of the Uterine Cervix. *Acta Cytologica* 11, 486 (1967)

- STANLEY, M.A., BIGHAM, D.A., COX, R.J. KIRKLAND, J.A. and OPIT, L.J.: Sex-chromatin anomalies in female patients with breast carcinoma. *Lancet* i, 690 (1966)
- TAFT, P.D. DALAL, K.P., Mc ARHUR, J.W. and WORCESTER, J.: Sex chromatin body size and its relation to X-chromosome structure. *Cytogenetics* 4, 87 (1965)
- TAVARES, A.S.: Tumores e sexo nuclear. *Médico (Porto)* 9, 8 (1958)
- TAVARES, A.S.: Sex chromatin in tumor cells. *Acta cytol. (Philad.)* 6, 90 (1962)
- THERKELSEN, A.J.: Lyonisation of the X-Chromosome. *Lancet* i, 987 (1964)
- THERKELSEN, A.J. and LAMM, L.U.: Difference in the frequency of sex-chromatin positive cells in DNA-sythesizing and nonsynthesizing human cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 41, 215 (1966)
- THERKELSEN, A.J. and LAMM, L.U.: Difference in the frequency of sex chromatin positive cells in the different intermitotic phases of human cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 44, 636 (1966)
- THERKELSEN, A.J.: Frequency of sex chromatin and number of nucleoli in cells grown in tissue cultures from normal human subjects and human subjects with supernumerary X-Chromosomes. *Acta pathol, microbiol. scand. Section A* 78, 295 (1970)
- TOWNSEND, J.F., CASE, M.S. and LUCAS, F.V.: The sex chromatin count in pregnancy. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 10814, 585 (1970)
- WACKER, B. and MILES, C.P.: Sex chromatin incidence and prognosis of breast cancer. *Cancer* 19, 1651 (1966)
- ZANG, K.D.: Ein halbautomatisches Verfahren zur Chromosomen- und Chromatinkörperzählung. *Die med. Welt* 69, 3 (1965)
- ZANG, K.D.: Zytogenetische Untersuchungen an intracraniellen Geschwülsten des Menschen. Habilitationsschrift, med. Fakultät der Univ. München (1970)
- ZANG, K.D. and SINGER, H.: Chromosomal Constitution of Meningiomas. *Nature* 216, 84 (1967)
- ZANG, K.D. und SINGER, H.: Die Zytogenetik der menschlichen Tumoren. *Angewandte Chemie* 18, 726 (1968)

- ZANKL, H., SINGER, H. and ZANG, K.D.: Cytological and Cytogenetical Studies on Brain Tumors. II. Hyperdiploidy, a Rare Event in Human Primary Meningiomas. *Humangenetik* 11, 253 (1971)
- ZANKL, H., STENGEL-RUTKOWSKI, S. and ZANG, K.D.: The Role of Acrocentric Chromosomes in Nucleolar Organization. II. Constancy of the Nucleolar Area Independent of the Number of Acrocentric Chromosomes in Meningioma Cultures. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* 13, 113 (1973)
- ZANKL, H. and ZANG, K.D.: Cytological and Cytogenetical Studies on Brain Tumors. III. Ph^1 -like Chromosomes in Human Meningiomas. *Humangenetik* 12, 42 (1971)
- ZANKL, H. and ZANG, K.D.: Cytological and Cytogenetical Studies on Brain Tumors. IV. Identification of the Missing G-Chromosome in Human Meningiomas as No. 22 by Fluorescence Technique. *Humangenetik* 14, 167 (1972)
- ZANKL, H. and ZANG, K.D.: The Role of Acrocentric Chromosomes in Nucleolar Organization. I. Correlation between the Loss of Acrocentric Chromosomes and an Decrease in the Number of Nucleoli in Meningioma of Cell Cultures. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* 11, 251 (1972)
- ZANKL, H., SEIDEL, H. and ZANG, K.D.: Sex chromosome loss in Human Tumours. *Lancet* 1974 ii (in press)
- ZANKL, H., SEIDEL, H. and ZANG, K.D.: Cytological and Cytogenetical Studies in Brain Tumors. V. Loss of X and Y Chromosome in Human Meningiomas. *Humangenetik* 1974 (in press)
- ZOLCH, K.J.: *Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste. Handbuch der Neurochirurgie*, Bd. III, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag (1956)
- ZOLCH, K.J.: *Die Hirngeschwülste*. Leipzig: J. Ambrosius Barth Verlag (1958)

VIII. LEBENSLAUF

Am 18. Juni 1941 wurde ich in Stuttgart als Tochter des Oberstudienrats Eugen Seidel (gefallen) und seiner Frau Marta, geb. Göhring und wieder verheiratete Bohne, geboren.

Von Herbst 1947 bis Ostern 1951 besuchte ich die Volksschulen in Waiblingen und Bonn. Nach Ostern 1951 trat ich ins Neusprachliche Mädchengymnasium, zunächst in Bonn, dann in Bad Godesberg ein. Dieses beendete ich an Ostern 1957 mit der Obersekundareife.

Nach einer einjährigen Frauenfachschule, einem zwischenzeitlichen Aufenthalt in London und einer halbjährigen Privathandelsschule absolvierte ich eine zweieinhalbjährige Ausbildung als Medizinisch Technische Assistentin in Bonn und arbeitete in diesem Beruf bis Oktober 1966, zuletzt am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München. Im Juli 1966 legte ich das Begabtenabitur beim Kultusministerium in München mit Erfolg ab.

Im November 1966 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Universität München. Das medizinische Staatsexamen bestand ich im Juli 1972. Die vorgeschriebene Medizinalassistentenzeit beendete ich im November 1973 und erhielt im Dezember 1973 die Approbationsurkunde.

